

TESIS DOCTORAL

***Optimización del proceso de lodos activos
para reducir la generación de fangos residuales***



**Carlos A. Aragón Cruz
Cádiz, Abril de 2009**



Facultad de Ciencias del Mar y Ambientales
Departamento de Tecnologías del Medio Ambiente

Tesis Doctoral

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE LODOS ACTIVOS PARA REDUCIR LA GENERACIÓN DE FANGOS RESIDUALES

Carlos A. Aragón Cruz

Cádiz, Abril de 2009

OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO DE LODOS ACTIVOS PARA REDUCIR LA GENERACIÓN DE FANGOS RESIDUALES

Memoria presentada por el Licenciado en Ciencias Ambientales D. Carlos A. Aragón Cruz
para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Cádiz

Fdo. D. Carlos A. Aragón Cruz

Cádiz, Abril de 2009

LA PRESENTE TESIS DOCTORAL HA SIDO DIRIGIDA POR LOS PROFESORES DOCTORES DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ D. JOSÉ M^a. QUIROGA ALONSO, CATEDRÁTICO DEL ÁREA DE TECNOLOGÍAS DEL MEDIO AMBIENTE, Y Dña. M^a. DOLORES COELLO OVIEDO, PROFESORA CONTRATADA DOCTORA DEL ÁREA DE TECNOLOGÍAS DEL MEDIO AMBIENTE DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ, Y CUMPLE CON LOS REQUISITOS EXIGIDOS POR LA LEGISLACIÓN VIGENTE.

Los Directores:

Dr. D. José M^a Quiroga Alonso

Dra. Dña. M^a Dolores Coello Oviedo

VºBº

Fdo. José M^a Quiroga Alonso
Director del Departamento de Tecnologías del Medio Ambiente
Universidad de Cádiz

Nunca pensé que podría llegar a hacer “investigación”, al menos no me lo había planteado durante mi niñez, aunque ahora recuerdo los primeros ensayos de reutilización de aguas grises que hice, hace ya muchos años, con el agua del desagüe de la lavadora. ¡Pobres plantas! Se ve que desde pequeño mi orientación científica estaba muy definida.

Lo que siempre he tenido claro es que me gusta el medio ambiente. Por ello, a la hora de elegir la carrera no tuve momento para la duda, y me embarqué en la recién estrenada titulación de la UCA “Ciencias Ambientales”. Corría el año 1999. No me arrepiento de mi elección, aunque al principio me costaba bastante explicar en qué consistía esta carrera. Era muy común que mis conocidos confundieran Ciencias Ambientales con Ciencias “*Mentales*” y me animaran diciéndome que eso tenía muchas “salidas”, supongo que porque los “locos” en Cádiz abundan y más cuando salta el levante. Superada esa barrera, todo marchó sobre ruedas: clases, prácticas, exámenes, y un etcétera de vivencias típicas de la vida universitaria. Durante esos años fui conociendo a personas y “personalidades” que marcaron mi trayectoria, los cuales me animaron, entre otras cosas, a convertirme en alumno colaborador y a los que, sin lugar dudas, debo el haber llegado a este momento.

Con el título de licenciatura en mano comenzó la aventura de la investigación. Una aventura impredecible, a veces poco gratificante y que sólo comprenden aquellos valientes que la emprenden. A todos mis compañeros de aventura, hoy doy las gracias:

Mi primer agradecimiento al Dr. D. José M^a Quiroga Alonso, director de esta tesis doctoral, quien desde un primer momento confió en mí, mostrándome su más sincero apoyo en todo momento, y guiándome por las sendas de este camino. De él he aprendido que con esfuerzo y tesón es posible alcanzar los objetivos que nos propongamos. Admiro tu dedicación incansable al grupo de investigación y tu entrega a todas las personas que lo componemos. Gracias, Chema.

Siempre me he ilusionado pensando en este momento: mostrar mi agradecimiento a la Dra. Dña. M^a Dolores Coello Oviedo. Si me hubiera visto en la tesitura de tener que elegir al codirector de la tesis, sin pensármelo te hubiera elegido a ti, Loli. Porque has estado al pie del cañón en este trabajo, demostrando tu gran valía como profesional pero, sobre todo, por brindarme tu apoyo incondicional, simpatía, cariño y amistad, mil gracias.

Al Dr. D. Diego Sales Márquez, actualmente Rector Magnífico de la Universidad de Cádiz pero, en el año 1999, el profesor que puso en mí las “bases de la ingeniería” y que me mostró la visión tecnológica del medio ambiente. A él le debo mi incorporación al grupo de investigación TMA, hoy en día, Departamento de Tecnologías del Medio Ambiente.

Mi más sincero agradecimiento al resto de profesores del área de Tecnologías del Medio Ambiente. En primer lugar os “sufrí” como alumno gozando de vuestros conocimientos. Luego os pude conocer como compañeros y gocé de vuestra amistad. Recuerdo con cariño las siempre interesantes reflexiones de Enrique Nebot, las conversaciones familiares con Montse (mi “número 3”) y los sabios consejos de Rosario Solera. También recuerdo algún que otro partidillo de fútbol y padel con Jordi, las “duras” sesiones de consejo de gobierno con Manolo Manzano, las charlas distendidas con mi paisana Carmen Garrido sobre las cosas de la Isla, las buenas paellas del Sr. Perales, al siempre atento José Luis García (“Selu”) y la profesionalidad de mi tocayo, Carlos Álvarez. Con Rocío crucé por primera vez el Estrecho y juntos sobrevivimos a un peligroso taxista y con Asun sufrí la ISO 9001 y me convertí en un duro auditor. Gracias a todos.

Aún recuerdo la primera vez que subí las escaleras de la pala C del CASEM. Unos escalones que al principio parecían interminables y que me hacían respirar con sofoco, pero que con el paso del tiempo fui capaz de subir de dos en dos. En mis continuas idas y venidas desde los institutos de investigación al laboratorio 708, compartí mi vida con numerosos compañeros a los que también hoy doy las gracias:

A D. Antonio Liñeiro, el “padre” de todos los becarios (en el buen sentido de la palabra). Gracias porque siempre estás apoyando a los que día a día nos enfrentamos al difícil mundo de la investigación, pero sobre todo por fomentar el compañerismo entre nosotros con esos jueves de feria, los partidos de España, el mostito y ajo de temporada, y un sin fin de eventos sociales que espero nunca se pierdan.

A Jesús Barragán (mi antecesor), Mari Ángeles, Inma Salcedo y Rosa, los primeros “nuevos” doctores que conocí y de los que aprendí mucho durante mis primeros pasos en el laboratorio. Para mí, y otros muchos, fuisteis y sois un ejemplo a seguir.

A mis compañeros del despacho de investigadores del CACYTMAR, el frente de colonización de los nuevos laboratorios, con los que pasé largas horas de trabajo, compartí muy buenos momentos y aprendí infinidad de cosas: Javi Lara y su buen gusto para las presentaciones “*power-point*”; Santiago Gutiérrez, compañero de Ambientales y mi primer colaborador, aunque pronto cambió de rumbo hacia las membranas; Miguel Ángel Sibila, con el cual comparto mi gusto por las ferias y sus volantes; el Mou, el más gaditano de todos los marroquíes que conozco; y Abel, hombre singular, maniático del orden pero con un gran corazón.

A las niñas del laboratorio de calidad: Inma Outón, Esther, Toñi y Natalia, con las que compartí tardes de charlas y muchas vivencias que difícilmente se borrarán de mi memoria. A Dani, por sus sesiones musicales que tanto animaban las sobremesas en el laboratorio. A María del Mar y Lourdes, porque siempre han tenido más de un minuto para escucharme.

A Txomin Casanueva, con el que aún tengo una conversación pendiente (jejeje), y Cristina, “cordobesa de los pies a la cabeza”, la niña de mis ojos y la que me ha hecho reír incluso en los momentos de mayor desesperación.

A Alberto, al cual prometo que ahora dedicaré parte de mi tiempo libre a leer sus enigmáticos escritos que aún conservo en mi correo; Blanca Montero, dulce compañera de fatigas en el increíble universo del microscopio electrónico; Andalu, mi mayor descubrimiento, gaditana de pro y con un corazón inmenso; y Juana, risueña extremeña que poco a poco le ha cogido gustillo a nuestra Bahía. A Yousseff, Libo y Raúl, compañeros del laboratorio 708, con los que he tenido el placer de compartir buretas, matraces, pipetas y algún que otro cafelito.

A las niñas del laboratorio 709: M^a José, mi gran apoyo, gracias por aguantar mis “pegos”, comprenderme y quererme, sé que estarás ahí siempre que te necesite; Julia, la persona con más paciencia que conozco y superviviente de mis múltiples campañas revolucionarias; y Mercedes, otra extremeña de las buenas, siempre con un piropo que dedicarme.

A los que se fueron incorporando al grupo en estos años y con los que compartí mis últimos momentos en la facultad: Manolito Lojo, todo un señor de Jerez; Víctor Riau, al que regalé en su día un “matamoscas” que al parecer surtió efecto; Jesús Ruiz, el mejor copiloto que he tenido y un gran confidente; Jesusito, mi “in-fatigable” colaborador; y Gema, digna heredera de mi legado.

A todos los nuevos investigadores que leerán estas páginas y a los que espero sirva de algo este trabajo. Suerte y ánimo!!!

Gracias al personal de todas y cada una de las EDAR que he visitado en estos años, en especial a Chari Gastardi y José Antonio Andrades por permitirme robarles parte de sus lodos, pero sobre todo, por aportarme sus conocimientos y acercarme a la realidad de la depuración.

A todos mis compañeros de la Fundación CENTA, por haberme permitido entrar en esta gran familia. Gracias en especial a Inmaculada Cuenca, Juan Ramón Pidre y a Juan José Salas, por la confianza depositada en mí. A Álvaro, mi mejor amigo por siempre y para siempre, un hermano en toda regla, aunque nuestra sangre lo desmienta; Ana, la “Secre” con más paciencia en la Tierra, capaz de soportarme 8 horas diarias, y aún así, ofrecerme su amistad; el grupo de “cartujanos” - Guillermo, Mercedes, Fátima y Pilar- con los que espero conocer los colores y sabores de Sevilla (prepararos a partir de ahora); Paco Luque, compañero en la indefinida torre de vigía; Luci, la compañera más noble, simpática y auténtica; mis niños del laboratorio - Paco Prieto, Víctor y Mauri- de los que sé a ciencia cierta que siempre tendré su apoyo; y los incasables operarios - Manuel y Andrés- fuente de sabiduría y bondad.

Este trabajo está dedicado a mis padres, Diego y M^a Carmen, y a mis hermanos, Juan Diego y Raúl, por ser mis guías en el camino de la vida. A toda mi familia por su apoyo incondicional en este largo camino aún sin entender, en algunos casos, el por qué de tanto sacrificio.

A todas y cada una de las personas que aquí no he nombrado y que en algún momento me dieron su aliento para seguir adelante. A todos vosotros, gracias.

*A mis padres y
a mis hermanos,*

La ciencia se compone de errores, que a su vez son los pasos a la verdad.

Julio Verne (1828-1905).

“A veces, el replanteamiento de un problema es más decisivo que el hallazgo de la solución, que puede ser un puro asunto de habilidad matemática o experimental. La capacidad de suscitar nuevas cuestiones, nuevas posibilidades de mirar viejos problemas, requiere una imaginación creativa y determina los avances científicos auténticos”.

Albert Einstein (1879-1955).

Contenido

Capítulo I. Introducción y objetivos	9
Capítulo II. Antecedentes Bibliográficos.....	13
II.1. Introducción a la depuración de aguas residuales	13
II.1.1. Línea de aguas de una estación de tratamiento de aguas residuales.	16
II.1.2. Línea de fangos de una estación de tratamiento de aguas residuales.	19
II.2. El sistema de lodos activos.....	32
II.2.1. Introducción al proceso de lodos activos.	32
II.2.2. Diagrama de flujo del proceso de lodos activos y variables del sistema	36
II.2.3. Microorganismos presentes en el sistema de lodos activos.	41
II.2.4. Introducción al metabolismo bacteriano	53
II.2.5. Breve introducción a la cinética del crecimiento microbiano	62
II.3. La generación de lodos residuales en los procesos biológicos de tratamiento: la problemática asociada a su gestión.	70
II.4. La reducción en origen de la producción de lodos de depuradora.	85
II.4.1. Alteración del metabolismo: disociación de las rutas catabólicas y anabólicas.....	86
II.4.2. Control de la edad del fango y el tiempo hidráulico de residencia (THR). 92	
II.4.3. Solubilización del fango y crecimiento críptico (<i>lysis-cryptic growth</i>)	92
II.4.4. Control de las comunidades de microorganismos en el sistema de fangos activos.....	94
Capítulo III. Metodología y Plan de Trabajo.....	97
III.1. La Estación de Tratamiento de Aguas Residuales “El Trocadero”. Características principales.	100
III.2. Ensayos a escala de planta piloto.....	105
III.2.1. Descripción de la planta de lodos activos a escala de laboratorio	105

III.2.2. Seguimiento y control de la planta piloto.....	107
III.3. Técnicas analíticas utilizadas	109
III.3.1. Técnicas analíticas para la caracterización de las aguas residuales tratadas en la EDAR “El Trocadero”	109
III.3.2. Técnicas analíticas aplicadas al control del reactor	111
III.3.3. Técnicas aplicadas a al determinación de la actividad microbiana.....	114
III.3.4. Técnicas microbiológicas	115
III.3.5. Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano.....	119
Capítulo IV. Resultados y discusión.....	121
IV.1. Optimización de las condiciones de operación de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio. Seguimiento de las poblaciones microbianas durante la puesta en marcha del sistema.....	122
IV.1.1. Ensayo para la selección de la procedencia de los fangos empleados para inocular la planta piloto.....	122
IV.1.2. Puesta en marcha y operación del sistema de lodos activos a escala de laboratorio y seguimiento de las poblaciones microbianas.....	129
IV.1.3. Conclusiones.....	142
IV.2. Estudio de la influencia del tiempo de residencia hidráulico sobre el comportamiento de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio y la producción de fangos.....	143
IV.2.1. Evolución del sistema piloto alimentado con agua residual procedente de la EDAR “El Trocadero” bajo distintos THR.....	144
IV.2.2. Evolución del sistema piloto alimentada con agua residual sintética bajo distintos tiempos hidráulicos de residencia.....	157
IV.2.3. Conclusiones.....	169
IV.3. Empleo de compuestos químicos para reducir la producción de lodos de depuradora.	171
IV.3.1. Introducción	171
IV.3.2. Comparación del potencial de varios agentes desacopladores para limitar la producción de fangos en exceso.....	172

IV.3.3. Adición de TCS a un sistema de lodos activos a escala de laboratorio. Estudio del comportamiento del sistema y la producción de fangos.....	191
IV.4. El proceso OSA (oxic-settling-anaerobic) para reducir la producción de lodos de depuradora.	225
IV.4.1. Introducción.....	225
IV.4.2. Material y métodos.....	226
IV.4.3. Resultados del seguimiento del sistema bajo el esquema de tratamiento OSA.....	228
IV.4.4. Conclusiones	242
IV.5. Reducción de la producción de lodos de depuradora mediante la adición de enzimas extracelulares y otros polímeros extracelulares generados en la digestión aerobia de lodos.....	244
IV.5.1. Introducción.....	244
IV.5.2. Material y métodos.....	246
IV.5.3. Resultados de la caracterización de los productos extracelulares generados en la digestión aerobia de fangos	252
IV.5.4. Comportamiento del sistema bajo la adición diaria de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares generados en un digestor aerobio de fangos.	253
IV.5.5. Conclusiones	267
IV.6. Estudio de viabilidad técnico-económica de las estrategias para reducir la producción de fangos en sistemas de lodos activos.....	268
IV.6.1. Valoración económica de las estrategias para la reducción de los fangos	268
IV.6.2. Criterios técnicos y ambientales aplicables a la selección de la estrategia de reducción	278
IV.6.3. Conclusiones	280
Capítulo V. Conclusiones.....	283
Referencias bibliográficas.....	287
Anexo.....	299

Índice de Tablas

Tabla II.1. Tipos de contaminación de las aguas residuales.....	14
Tabla II.2. Espesadores utilizados en función de las características de los lodos así como sus rendimientos ..	23
Tabla II.3. Cantidad de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ necesaria para mantener el pH por encima de 12 durante 2 horas	27
Tabla II.4. Variables del proceso y descripción de corrientes	37
Tabla II.5. Parámetros de diseño para el sistema de lodos activos (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995).....	41
Tabla II.6. Composición típica de las células bacterianas (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995)	42
Tabla II.7. Clasificación de las bacterias según el intervalo de temperatura en el que se desarrollen (Lora y Miró, 1978).....	43
Tabla II.8. Principales grupos de protozoos presentes en el fango activo (Coello M ^º D., 1998)	46
Tabla II.9. Clasificación general de los microorganismos atendiendo a sus fuentes de energía y de carbono ..	53
Tabla II.10. Aceptores de electrones en las reacciones bacterianas normalmente presentes en el agua residual	54
Tabla II.11. Producción de lodos (miles de toneladas) en las depuradoras de aguas residuales urbanas en Europa (1996-2007).	71
Tabla II.12. Resumen de costes de tecnologías disponibles para el tratamiento de fangos en el año 2002 (Sevilla M. et al., 2005)	84
Tabla III.1. Rango de valores característicos del influente de la EDAR “El Trocadero” durante el periodo de estudio.....	102
Tabla III.2. Parámetros medidos en fangos de la cuba de aireación durante el periodo de estudio	103
Tabla III.3. Composición de la alimentación sintética empleada en el ensayo	107
Tabla III.4. Procedimientos de Análisis de Parámetros Físico-Químicos en las Aguas Residuales de la EDAR	110
Tabla III.5. Decantabilidad de un fango activado de acuerdo con su IVF (Wanner, 1997)	112
Tabla IV.1. Condiciones de operación del sistema en el primer ensayo en la planta de lodos activos	129
Tabla IV.2. Composición del agua residual sintética basada en sacarosa	133
Tabla IV.3. Parámetros de operación en la puesta en marcha del sistema alimentado con agua residual real 138	
Tabla IV.4. Condiciones de operación establecidas en el ensayo de la influencia del THR sobre la producción de fangos en exceso.....	144
Tabla IV.5. Recuento de células totales y activas en el sistema alimentado con agua residual real	155
Tabla IV.6. Tasa de crecimiento observada en fangos con alimentación real bajo los distintos tiempos hidráulicos de residencia ensayados.....	156
Tabla IV.7. Recuento de células totales y activas en el sistema alimentado con agua residual sintética	167
Tabla IV.8. Tasa de crecimiento observada en fangos con alimentación real bajo los distintos tiempos hidráulicos de residencia ensayados.....	168
Tabla IV.9. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de cobre añadidas	175
Tabla IV.10. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de cobre estudiadas	177
Tabla IV.11. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de zinc añadidas.....	178
Tabla IV.12. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de zinc estudiadas	180
Tabla IV.13. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de DNP añadidas	182
Tabla IV.14. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de 2,4-DNP estudiadas.....	183
Tabla IV.15. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de TCS añadidas.....	185

Tabla IV.16. Características medias de los fangos bajo 0,2/0,5/0,8 mgTCS/l	187
Tabla IV.17. Tasas de crecimiento microbiano obtenidas en el segundo ensayo con TCS	188
Tabla IV.18. Características medias de los fangos bajo 1/2/5 mgTCS/l	189
Tabla IV.19. Recuento de células totales y activas en sistemas con 0,5 y 1 mgTCS/l bajo THR= 11h.	205
Tabla IV.20. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos previa a la dosificación de TCS (THR=11h).	206
Tabla IV.21. Resultados ensayo de degradación cinética y tasa de crecimiento observada para fangos dosificados con TCS (THR=11h).	207
Tabla IV.22. Recuento de células totales y activas en sistemas con 0,5 y 1 mgTCS/l bajo THR= 7 h.	220
Tabla IV.23. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos previa a la dosificación de TCS (THR=7h).	221
Tabla IV.24. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos dosificados con TCS (THR=7h).	222
Tabla IV.25. Etapas de trabajo y condiciones de operación características bajo el esquema OSA	228
Tabla IV.26. Estimación de la cantidad de fangos en el sistema en cada una de las etapas	232
Tabla IV.27. Recuento de células totales y activas en el ensayo del proceso OSA	239
Tabla IV.28. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada bajo el esquema de tratamiento OSA durante las etapas 2 y 3	241
Tabla IV.29. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada bajo el esquema de tratamiento OSA (etapa 4: THR _{aeración} =7h; THR _{anóxica} =6h).	241
Tabla IV.30. Hidrolasas de “clase 3” en los sistemas biológicos de depuración (Burgess J.E. y Pletschke B.I, 2008).	245
Tabla IV.31. Etapas de trabajo y condiciones de operación bajo la combinación lodos activos-digestor aerobio	249
Tabla IV.32. Composición del sobrenadante de la digestión aerobia de lodos	252
Tabla IV.33. Recuento de células totales y activas bajo la combinación lodos activos-digestor aerobio de fangos	264
Tabla IV.34. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares (etapa 2: THR _{aeración} =11h).	265
Tabla IV.35. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares (etapa 3: THR _{aeración} =7h)	266
Tabla IV.36. Datos de generación de lodos en EDAR con digestión anaerobia y costes asociados.	269
Tabla IV.37. Datos estimados de generación de lodos y costes asociados tras la implantación de las estrategias de reducción.	271
Tabla IV.38. Estimación de costes totales para el tratamiento de fangos (deshidratación y consumo eléctrico)	274
Tabla IV.39. Coste del tratamiento final de lodos en EDAR convencional y al aplicar las estrategias de reducción	275
Tabla IV.40. Presupuesto construcción del tanque de retención anóxico	277
Tabla IV.41. Aspectos técnico-ambientales para evaluación de alternativas.	279

Índice de Figuras

Figura II.1. Ejemplo de esquema de una estación depuradora de aguas residuales.....	15
Figura II.2. Línea de fangos de una EDAR convencional	22
Figura II.3. Etapas bioquímicas de la biometanización	25
Figura II.4. Esquema del proceso convencional de lodos activos	33
Figura II.5. Diagrama de flujo del proceso de lodos activos (Ramalho, 1996).....	36
Figura II.6. Correlación típica entre IVL (índice volumétrico de lodos) y VSZ (velocidad de sedimentación zonal) con la relación A:M (intensidad de carga) (Ramalho, 1996).	39
Figura II.7. Distintas morfologías y agrupaciones bacterianas	42
Figura II.8. Pirámide trófica del sistema de lodos activos. (Gray, 1989)	50
Figura II.9. Secuencia de aparición de los microorganismos en el fango activo	52
Figura II.10. Esquema del catabolismo	57
Figura II.11. Reacciones que conforman el ciclo de Krebs	58
Figura II.12. Transferencia de electrones y fosforilación oxidativa en la cadena respiratoria mitocondrial	59
Figura II.13. Balance energético global de la respiración aerobia de una molécula de glucosa	60
Figura II.14. Curva típica de crecimiento bacteriano (Glynn Henry J. y Heinke, G.W, 1999)	63
Figura II.15. Representación del lnX frente al tiempo.....	67
Figura II.16. Curvas típicas de la concentración de sustrato soluble y de los SVSLM en un reactor discontinuo (Ramalho, 1996)	68
Figura II.17. Evolución de la generación anual de LD (t materia seca/ año)	70
Figura II.18. Destino final de los lodos generados en la depuración de las aguas residuales medidos como materia seca.....	73
Figura II.19. Esquema de los tratamientos finales de los lodos de EDAR.....	76
Figura II.20. Compostaje en pilas estáticas aireadas.....	78
Figura II.21. Diagrama de flujo general para un proceso de secado térmico (EEA, 1997).....	80
Figura II.22. Mecanismos de inhibición de la cadena transportadora de electrones y la generación de ATP	89
Figura III.1 Diagrama de flujo EDAR “El Trocadero”	101
Figura III.2. Planta piloto escala de laboratorio utilizada en la realización de las distintas experiencias	105
Figura III.3. Sistema usado para la determinación del OUR	114
Figura III.4. Esquema del protocolo seguido en la determinación de la relación células activas/totales (CTC/DAPI).....	117
Figura IV.1. Inóculos procedentes de diversas estaciones depuradoras de la Bahía de Cádiz: (1) “La Barrosa”; (2) “Cádiz-San Fernando”; (3) “El Trocadero”; (4) “Guadalete”; y (5) “Agua residual madurando”.....	123
Figura IV.2. Evolución de STS (g/l), V30 (ml, corregido a 1litro) y DQO efluente (mg/l).....	124
Figura IV.3. Foto en detalle del crecimiento masivo de organismos filamentosos y la disgregación de flóculos por puentes interfloculares.....	128
Figura IV.4. Evolución de los SS, IVF y SOUR en el primer ensayo en continuo	130
Figura IV.5. Detalle del decantador secundario bajo fenómeno de <i>bulking</i> severo.....	133
Figura IV.6. Bacterias filamentosas bajo tinción <i>Gram</i>	135

Figura IV.7. Evolución de SS, IVF, SOUR en la cuba de aireación y eficiencia del sistema alimentado con agua residual real	139
Figura IV.8. Evolución de sólidos totales y volátiles en suspensión en el reactor con alimentación real.....	145
Figura IV.9. Cantidad de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas del sistema alimentado con agua residual real	146
Figura IV.10. Edad del fango (días) en cada una de las etapas del sistema con alimentación real.....	147
Figura IV.11. Evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el reactor con alimentación real	148
Figura IV.12. Evolución de la velocidad de carga orgánica ($\text{mgDQO} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el sistema con alimentación real	149
Figura IV.13. Evolución del IVF en el sistema con alimentación real bajo los distintos tiempos de residencia aplicados	150
Figura IV.14. Evolución de la relación A:M (d^{-1}) en el sistema con alimentación real bajo los distintos tiempos de residencia aplicados	151
Figura IV.15. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el sistema con alimentación real	152
Figura IV.16. Crecimiento de filamentosas en el fango activo	154
Figura IV.17. Evolución de sólidos totales y volátiles en suspensión en el reactor alimentado con agua residual sintética	157
Figura IV.18. Cantidad de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas del sistema alimentado con agua residual sintética	158
Figura IV.19. Cantidad de fangos purgados del sistema durante los 9 primeros días de la etapa 3.....	159
Figura IV.20. Edad del fango (días) en cada una de las etapas del sistema con alimentación sintética.....	160
Figura IV.21. Evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el reactor con alimentación sintética	161
Figura IV.22. Evolución de la velocidad de carga orgánica ($\text{mgDQO} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el sistema con alimentación sintética	162
Figura IV.23. Evolución del IVF en el sistema con alimentación sintética bajo los distintos tiempos de residencia aplicados	163
Figura IV.24. Evolución de la relación A:M (d^{-1}) en el sistema con alimentación sintética bajo los distintos tiempos de residencia aplicados	164
Figura IV.25. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el sistema con alimentación sintética	165
Figura IV.26. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del Cu	176
Figura IV.27. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del Zn	179
Figura IV.28. Mecanismo de acción del 2,4-DNP	181
Figura IV.29. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del DNP.....	184
Figura IV.30. Molécula de 3,3',4',5-tetraclorosalicilanilida (TCS)	185
Figura IV.31. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para 0; 0,2; 0,5 y 0,8 mgTCS/l.....	186
Figura IV.32. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para 0; 1; 2 y 5 mgTCS/l.....	188
Figura IV.33. Evolución de los STS y SVS para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	192
Figura IV.34. Fangos eliminados del sistema para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS	194
Figura IV.35. Edad del fango en el reactor para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	196

Figura IV.36. Evolución del SOUR para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS.....	197
Figura IV.37. Evolución de la relación A:M para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS.....	199
Figura IV.38. Evolución del IVF para THR= 11h y dosis a) 0,5 mg/L y b) 1 mg/L de TCS	200
Figura IV.39. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente para THR= 11h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	202
Figura IV.40. Evolución de los STS y SVS para THR=7h y dosis a) 0,5 mg/L y b) 1 mg/L de TCS	209
Figura IV.41. Fangos eliminados del sistema para THR= 7 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	210
Figura IV.42. Edad del fango en el reactor para THR= 7h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	212
Figura IV.43. Evolución del SOUR para THR=7 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS	213
Figura IV.44. Evolución de la relación A:M para THR=7 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS.....	215
Figura IV.45. Evolución del IVF para THR= 7 h y dosis a) 0,5 mg/L y b) 1 mg/L de TCS	216
Figura IV.46. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente para THR= 7h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS.....	218
Figura IV.47. Esquema del proceso OSA a escala de laboratorio.	225
Figura IV.48. Detalle de la cámara anóxica-anaerobia intercalada en la recirculación del sistema de fangos activos	227
Figura IV.49. Evolución de los STS y SVS en el tanque de aireación bajo el esquema OSA	229
Figura IV.50. Evolución de los sólidos en la cámara anóxica bajo el esquema OSA.....	230
Figura IV.51. Cantidad de fangos eliminados diariamente del sistema bajo el esquema OSA	231
Figura IV.52. Edad del fango en el sistema de lodos activos bajo el proceso OSA	233
Figura IV.53. Evolución del SOUR bajo el esquema de tratamiento OSA	234
Figura IV.54. Evolución del IVF bajo el esquema de tratamiento OSA	235
Figura IV.55. Evolución de la relación A:M bajo el esquema de tratamiento OSA	236
Figura IV.56. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente bajo el esquema de tratamiento OSA.....	237
Figura IV.57. Esquema de la combinación del sistema de lodos activos y digestor aerobio de fangos.....	247
Figura IV.58. Fotografía de la combinación del sistema de lodos activos (unidad que aparece a la derecha de la foto) y el digestor aerobio de fangos (unidad a la izquierda)	248
Figura IV.59. Evolución de los STS y SVS en el tanque de aireación en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares.	254
Figura IV.60. Cantidad de fangos purgados diariamente del sistema en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares.	255
Figura IV.61. Evolución de los sólidos en suspensión en el digestor aerobio de fangos	256
Figura IV.62. Edad del fango en el sistema de lodos activos en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares	257
Figura IV.63. Evolución del SOUR en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares	257
Figura IV.64. Tasa de respiración endógena (SOUR, $\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) y tasa de consumo de oxígeno (OUR, $\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) en el digestor aerobio de fangos.....	259
Figura IV.65. Evolución del IVF sistema en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares	260
Figura IV.66. Evolución de la relación A:M en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares	261
Figura IV.67. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares.....	262

Capítulo I.

Introducción y objetivos

“El medio ambiente se ha degradado de forma irreversible como consecuencia de la actividad humana”. Esta frase resume las conclusiones del estudio más exhaustivo que se ha elaborado sobre el estado del planeta, denominado “Evaluación de los Ecosistemas del Milenio”, en el que han participado 1.300 expertos de 95 países bajo el paraguas de la ONU.

La contaminación originada tanto por el asentamiento urbano como por los núcleos industriales ha producido un deterioro del medio ambiente. Este deterioro está adquiriendo, en los últimos años, una proporción alarmante motivada tanto por el aumento de la población, como por las crecientes demandas que ella por sí misma origina, típicas por otra parte de la sociedad consumista en la que vivimos.

A pesar de lo comentado anteriormente, la sociedad actual en los países desarrollados comienza a ser consciente de que el desarrollo debe realizarse en sintonía con el medio natural. De hecho, la degradación del medio ambiente, en general, y de los cursos naturales de las aguas, en particular, es un factor limitante para el desarrollo económico y humano, ya que afecta negativamente a sus posibles usos, desde el abastecimiento público hasta cualquier actividad recreativa, pudiendo en algunos casos, incluso modificar los ecosistemas.

Con el fin de poner freno a este progresivo deterioro, los gobiernos se han puesto manos a la obra y han procedido a la instalación de plantas para el tratamiento de aguas residuales, tanto de origen doméstico como de origen industrial. Asimismo, se ha desarrollado una extensa legislación para regular este proceso. En la actualidad, todas las poblaciones de más de 15.000 habitantes equivalentes y todas las superiores a 2.000 habitantes equivalentes deben depurar sus aguas residuales (Directiva 91/271/CEE y Real Decreto-Ley 11/1995 de la Jefatura de Estado, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas). Igualmente, las aguas residuales generadas en pequeñas aglomeraciones urbanas, con una población inferior a 2.000 h.e., requieren de un tratamiento adecuado.

En las estaciones de tratamiento se lleva cabo la depuración de las aguas mediante la aplicación de una serie de operaciones físicas, químicas y/o biológicas en una secuencia determinada. El fin último es obtener un efluente que cumpla los criterios establecidos por la legislación vigente en materia de vertido y que el impacto ambiental asociado al mismo sea mínimo. No obstante, y en cumplimiento del principio de Lavoisier “la materia no se crea ni se destruye, sólo se transforma”, en una planta de tratamiento de aguas residuales la materia contaminante que

acompaña a las aguas pasa de un estado líquido o semilíquido a un concentrado sólido o semisólido. Una parte, la no biodegradable, simplemente es retirada del fluido; otra parte, la metabolizable, es incorporada a la vida como componente celular. En definitiva, en estas instalaciones se consigue purificar las aguas a costa de la “inevitable” generación de un residuo no deseado denominado genéricamente lodo residual o biosólido. Los contaminantes son transferidos del estado líquido al estado sólido, pero siguen existiendo como tales aunque su toxicidad o peligrosidad sobre el medio puede haber sido modificada. Por tanto, el tratamiento de las aguas no termina una vez que el efluente de la EDAR es vertido al medio ambiente, sino que continúa hasta que los contaminantes son “destruidos” definitivamente o, en otras palabras, el lodo es transformado en un material inerte e inocuo.

El tratamiento de los lodos de depuradora no está exento de problemas. Los procesos a los que son sometidos son caros (en algunos casos, suponen más del 50% de los costes de explotación y mantenimiento de las EDAR), complejos y no siempre tienen aceptación social (por ejemplo, la incineración de fangos). Además, salvo que se volatilicen, proceso mediante el cual pasarían a la atmósfera pudiendo producir su contaminación, siempre queda un residuo final, más inocuo que el original, pero que requiere un destino final. La aplicación en agricultura, debido a su rico contenido en nutrientes (N y P), es una de las opciones más fomentadas en los planes de gestión de estos tipos de residuos y, además, ambientalmente positiva. Existen otros posibles usos beneficiosos de estos residuos de los que se dará debida cuenta en apartados posteriores de esta tesis doctoral.

Las cifras de producción actual de lodos de depuradora son alarmantes. En el periodo 1997 a 2005, la producción de estos residuos se incrementó en un 39% en España, según datos aportados en el II Plan Nacional de Lodos de Depuradora. Las previsiones son al alza ya que la depuración de las aguas residuales tiende a extenderse al 100% de los efluentes generados (éste debe ser el objetivo) y cada vez es mayor el grado de depuración exigido. El problema es que los tratamientos y destinos finales de estos residuos no están creciendo al mismo ritmo. A todo esto, es necesario sumar la limitada capacidad de almacenamiento que presentan las plantas de tratamiento de aguas residuales o los centros de transferencia de residuos a los que se dirigen.

Ante estos problemas, la gestión de los lodos de depuradora debe presentar un cambio de filosofía y dirigirse hacia la minimización de la producción de estos residuos. De esta forma primaría el principio de la “prevención en origen de la contaminación”, fomentando métodos o estrategias que permitan reducir la producción de los lodos residuales frente al tratamiento de los mismos. De hecho, el artículo 1.1 de la Ley 10/1998 de Residuos establece como primer principio en la gestión de residuos la prevención, que en el caso que nos atañe, se traduce en la **reducción** de los lodos generados y minimización en origen de su contaminación.

Varios investigadores han propuesto una amplia variedad de estrategias con un objetivo común: la reducción de la producción de fangos en exceso. Incluso algunas empresas comienzan a comercializar productos con el mismo fin. Algunas de estas estrategias se basan en alterar el metabolismo microbiano potenciando las rutas degradativas y limitando el crecimiento celular. Otras tienen su base en la solubilización de los fangos, y otras en el

establecimiento de compartimentos ecológicos correspondientes a organismos depredadores de bacterias. Todas las estrategias han sido ensayadas a escala de laboratorio y/o piloto y, de momento, no se han descrito experiencias a escala real. La mayor parte de estos estudios se centran en conocer exactamente los mecanismos que permiten dicha minimización y, en algunos casos, no contemplan el comportamiento del sistema de tratamiento a largo plazo, ni sus posibles interferencias con los tratamientos posteriores.

Dentro del grupo de investigación de “Tecnología del Medio Ambiente” de la Universidad de Cádiz, se diferencian dos grandes campos de trabajo: Calidad Ambiental y Tecnologías de Depuración. En este último grupo se encuentra la línea de tratamiento biológico aerobio de aguas residuales y lodos de depuradora, dentro de la cual se enmarca el presente trabajo de investigación. Son varios los estudios realizados en esta línea de investigación sobre los procesos aerobios de tratamiento de las aguas residuales, principalmente en sistema de fangos activos y digestión aerobia de fangos de depuradora. El objetivo común en todos ellos es optimizar dichos procesos desde el punto de vista operacional y económico, y bajo esta misma perspectiva se desarrolla el presente trabajo de investigación.

Continuando esta filosofía de trabajo y teniendo en cuenta la problemática actual asociada al tratamiento y gestión de los lodos de depuradora, el objetivo general de la presente tesis doctoral es **optimizar** el sistema de lodos activos introduciendo modificaciones en el proceso convencional que permitan **reducir la cantidad de fangos en exceso generados**, facilitando su posterior gestión y tratamiento. Si bien la experimentación se ha realizado sobre un sistema de lodos activos, los resultados obtenidos pueden ser aplicables, *a priori*, a todos los sistemas de tratamiento de cultivos biológicos en suspensión.

Para alcanzar el objetivo general del estudio, se han planteado los siguientes objetivos parciales:

1. Realizar un “estado del arte” sobre las estrategias aplicadas para reducir la cantidad de fangos en exceso en los sistemas de lodos activos y que han sido descritas en la bibliografía científica.
2. Puesta en marcha de una unidad de lodos activos a escala de laboratorio y estudio de la generación de fangos bajo diferentes condiciones de operación, evaluando al mismo tiempo el funcionamiento del sistema así como las diferentes poblaciones microbianas desarrolladas en cada una de ellas.
3. Aplicación de las estrategias para la minimización de la producción de fangos en el sistema de lodos activos a escala de laboratorio evaluando la producción de fangos residuales y analizando la población microbiana presente en el reactor en las distintas estrategias adoptadas.
4. Comparación de los resultados obtenidos incluyendo aspectos económicos, técnicos y ambientales. Propuesta de una estrategia viable para su aplicación a una unidad de lodos activos a escala piloto (semi-industrial).

Capítulo II.

Antecedentes Bibliográficos

II.1. Introducción a la depuración de aguas residuales

Dentro de la problemática general de la contaminación medio ambiental, la contaminación del agua es de extraordinaria importancia, ya que al ser ésta una sustancia fundamental para los habitantes de la tierra, es necesario preservarla de dicha contaminación. Los problemas de contaminación de las aguas son todavía más importantes en determinadas regiones como la andaluza, motivada tanto por la frecuencia con la que se producen las sequías en los últimos años, y cada vez con una mayor intensidad, como por la escasez y aumento de la demanda de recursos hídricos de nuestra región.

Toda esta problemática, junto con los nuevos requisitos que establecen las legislaciones española y europea en materia de control de vertidos y calidad de aguas, motivan la necesidad de depurar los efluentes residuales que se generan. Independientemente del origen y características de las aguas residuales urbanas, éstas deben ser tratadas adecuadamente, antes de su vertido o reutilización, con el fin de (Martín I. *et al*, 2006):

- Proteger el estado ecológico de los medios receptores (embalses, ríos, barrancos, acuíferos, mar, etc.) del grueso de la contaminación orgánica procedente de las aguas residuales.
- Evitar riesgos para la salud pública de la población.
- Producir efluentes con características físicas, químicas y microbiológicas aptas para su reutilización.

Como consecuencia de esto, durante los últimos años se han construido y puesto en marcha un gran número de Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR). Estas instalaciones de depuración tienen por objeto separar las sustancias no deseables presentes en el agua, de forma que esta pueda ser vertida al medio ambiente sin que presente ningún tipo de peligro o de riesgo (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995). El tipo de contaminantes presentes en las aguas residuales depende del origen de las mismas. De forma general, las aguas residuales se clasifican según su origen en aguas residuales domésticas (urbanas) y aguas residuales industriales. En la

Tabla II.1 se muestran las características físico-químicas más importantes de las aguas residuales urbanas, haciéndose una clasificación de las mismas atendiendo a los distintos grados de contaminación que pueden presentar.

Tabla II.1. Tipos de contaminación de las aguas residuales

Parámetro	Contaminación	Contaminación	Contaminación Ligera
ST	1000	500	200
STV	700	350	120
Fijos (STF)	300	150	80
Sólidos en suspensión totales (SS)	500	300	100
Volátiles (SSV)	400	250	70
Fijos (SSF)	100	50	30
Sólidos sedimentables totales (S.s)	250	180	40
Volátiles (S.s.V)	100	72	16
Fijos (S.s.F)	150	108	24
Sólidos disueltos totales (S.D)	500	200	100
Volátiles (S.D.V)	300	100	50
Fijos (SDF)	200	100	50
DBO ₅ , a 20°C	300	200	100
DQO	800	450	160
Oxígeno Disuelto	0	0.1	0.2
Nitrógeno total	86	50	25
Nitrógeno orgánico	35	20	10
Amoníaco libre	50	30	15
Nitritos (N-NO ₂)	0.10	0.05	0.00
Nitratos (N-NO ₃)	0.40	0.20	0.10
Fósforo total	17	7	2
Cloruros	175	100	15
pH	6-9	6-9	6-9
Grasas	40	20	0

Valores en mg/l

Fuente: Depuración y Desinfección de Aguas Residuales. Aurelio Hernández Muñoz (2001)

Los tratamientos a los que se ven sometidas las aguas residuales en una planta de tratamiento están constituidos por un conjunto de procesos unitarios físicos, químicos y biológicos, cuya

secuencia va a venir determinada por el tipo de agua a tratar y el grado de depuración exigido al efluente final. La selección de los procesos de tratamiento de aguas residuales depende de un cierto número de factores, entre los que se incluyen:

- Características del agua residual: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), materia en suspensión, pH, productos tóxicos, etc.
- Calidad del efluente de salida requerido, que está determinado por la legislación, las características del cuerpo de agua receptor del vertido final o por los usos posteriores de ese vertido (reutilización de las aguas).
- Coste y disponibilidad de terrenos.
- Consideraciones de las futuras ampliaciones o la previsión de límites de calidad de vertido más estrictos, que necesiten el diseño de tratamientos más sofisticados en el futuro.

En la mayor parte de estos tratamientos que reciben las aguas residuales se van generando una serie de residuos, conocidos genéricamente con el nombre de lodos o fangos, y que son necesarios tratar. Dentro del concepto de fangos o lodos se pueden englobar todos aquellos cuerpos contaminantes, y sus productos de transformación cualquiera que sea su naturaleza, que son retirados de la fase líquida en las distintas unidades de la EDAR y que son reunidos en suspensiones más o menos concentradas en distintas unidades de la misma. Por ello, en una EDAR es posible distinguir una línea de aguas y otra de lodos, por lo que de un único influente, el agua contaminada, aparecen dos efluentes, el agua depurada y los lodos o biosólidos. La línea de lodos no es un proceso aislado del resto, sino que por el contrario se encuentra relacionada con todos los procesos fundamentales de la línea de aguas. En la Figura II.1 se muestra un esquema de una EDAR en la que se observan las líneas de aguas y fangos.

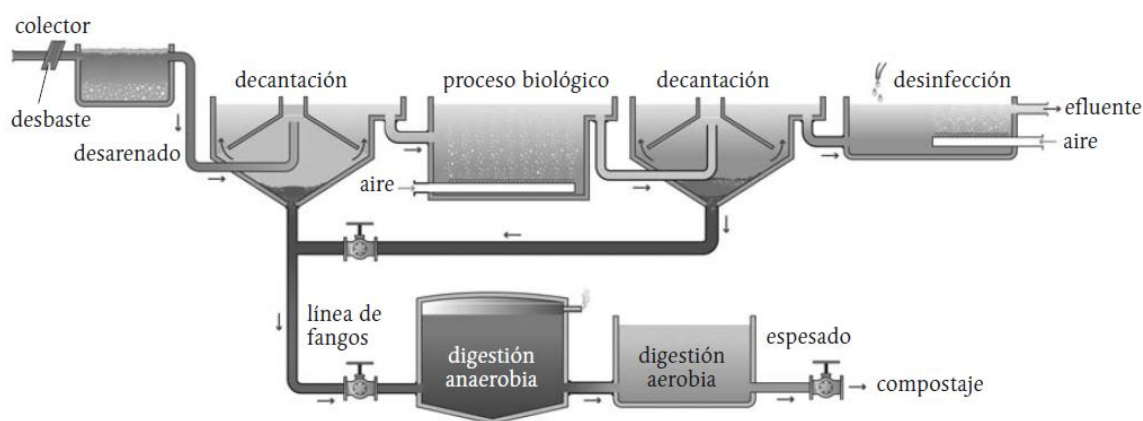


Figura II.1. Ejemplo de esquema de una estación depuradora de aguas residuales

A parte de las líneas de agua y fangos, en una EDAR aparecen otras líneas de residuos o subproductos generados durante los distintos tratamientos, cuya gestión también resulta de máxima importancia. Destacan las líneas de biogas, cuando se aplican procesos anaerobios, y la línea de residuos asimilables a residuos sólidos urbanos. No obstante, en este apartado sólo se especifican algunas características de las líneas de aguas y lodos.

II.1.1. Línea de aguas de una estación de tratamiento de aguas residuales.

Dentro del esquema general de una estación de tratamiento de aguas residuales se pueden distinguir cuatro niveles de depuración claramente definidos, los cuales conforman la línea de aguas (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995).

Tratamientos previos o pretratamientos

Los pretratamientos de aguas residuales implican la reducción de sólidos en suspensión y el acondicionamiento de las aguas residuales, bien para su posterior descarga en los cauces receptores o para ser sometidas a una serie de tratamientos. Estos tratamientos previos incluyen sistemas de rejillas de desbaste de gruesos y finos, tamices y cámaras de desarenado-desengrasado. A veces, al final del pretratamiento se realiza un tratamiento químico con la adición de coagulantes, normalmente sales de Fe^{3+} y Al^{3+} , antes de pasar a la decantación primaria.

Tratamientos primarios

El principal objetivo de estos tratamientos es la reducción de los sólidos en suspensión, siendo poco efectivo en la eliminación de la materia orgánica, aunque hay que tener en cuenta que se reduce parte de ésta que está en suspensión. Entre los distintos tratamientos primarios existentes podemos destacar:

- Sedimentación o decantación primaria
- Flotación
- Neutralización.

Tratamientos secundarios

Pretenden eliminar o reducir la contaminación de tipo orgánico y la coagulación y eliminación de los sólidos coloidales no decantables, pudiendo estar basados en operaciones de tipo físico-químicas o en procesos de naturaleza biológica siendo en el caso de las depuradoras convencionales, el tipo conocido como “fangos activos”.

Los procesos biológicos son empleados cuando el agua residual a depurar tiene un alto contenido orgánico. Estos procesos se llevan a cabo mediante la intervención de microorganismos que actúan sobre la materia orgánica e inorgánica, suspendida, disuelta y coloidal existente en el agua residual, transformándola en sólidos sedimentables (nuevos microorganismos) que pueden separarse. Dependiendo de las condiciones en las que se realice el proceso, distinguimos dos tipos: tratamiento biológico aerobio (en presencia de oxígeno) y tratamiento biológico anaerobio (en ausencia de oxígeno).

Estos procesos biológicos pueden llevarse a cabo mediante una importante abanico de tecnologías, tanto intensivas, tradicionalmente denominadas convencionales, como extensivas (no convencionales). La diferencia entre ambos tipos de sistemas radica en dos aspectos fundamentales: el empleo de equipos electromecánicos con la consecuente necesidad de aportar energía extra al sistema, y la superficie requerida para su implantación. Mientras que las tecnologías intensivas se caracterizan por acelerar los procesos de depuración mediante el suministro externo de energía, las tecnologías extensivas se basan en la imitación de los procesos de depuración que ocurren naturalmente en los suelos y en los cuerpos de agua, para lo cual requieren una gran superficie. Hay un tercer bloque entre los dos anteriores que lo constituyen aquellas tecnologías que se encuentran en una situación intermedia tanto en relación con la cantidad de equipos electromecánicos que utilizan como en relación con la energía que consumen.

A continuación, se enumeran las distintas tecnologías que actualmente se aplican mayoritariamente para depurar las aguas residuales urbanas:

Tecnologías extensivas:

- Las que recurren al empleo del suelo como elemento depurador:
 - Sistemas de aplicación subsuperficial: *Zanjas Filtrantes, Lechos Filtrantes, Pozos Filtrantes*
 - Sistemas de aplicación superficial: *Filtros Verdes*
- Las que simulan las condiciones propias de los humedales naturales
 - *Humedales Artificiales*, en sus distintas modalidades: Flujo Libre y Flujo Subsuperficial (Vertical y Horizontal)
- Las que imitan los procesos naturales de depuración que se dan en ríos y lagos
 - *Lagunaje*

- Las que se basan en la filtración de las aguas a tratar a través de un carbón natural
 - *Filtros de Turba*

Tecnologías intensivas:

- Sistema de lodos activos (de alta carga, convencional o aireación prolongada)
- Digestión anaerobia

Dentro de las tecnologías intensivas también es importante mencionar otras tecnologías emergentes, como son los reactores secuenciales, los biorreactores de membrana (combinación lodos activos-sistema de membranas) y la tecnología de biomasa fija sobre lecho móvil, ya sea separada (MBBR) o combinada con los fangos activos (IFAS).

Tecnologías intermedias:

- Lechos Bacterianos
- Contactores Biológicos Rotativos

Por otra parte, entre los múltiples procesos **físico-químicos** aplicables al tratamiento secundario de las aguas residuales, el de mayor implantación es la coagulación-floculación. Este proceso consiste en la formación de flóculos por unión de partículas en suspensión existentes en un líquido de forma natural (floculación) o provocada por la adición de productos químicos denominados coagulantes (coagulación), que facilitan su posterior separación por sedimentación o filtración.

Tratamientos terciarios

Conjunto de procesos u operaciones unitarias destinadas a conseguir una mayor calidad del efluente que la obtenida mediante procesos convencionales. Fundamentalmente se aplican cuando se quiere reutilizar el agua para un determinado fin.

Por lo general suelen ser procesos caros y sofisticados que consiguen reducir las concentraciones de contaminantes a valores muy bajos. Las técnicas más comunes empleadas en el tratamiento terciario son las que figuran a continuación:

- **Separación de sólidos en suspensión:** Los sólidos en suspensión que no han sido eliminados en las operaciones convencionales de tratamiento primario y secundario pueden constituir una parte importante de la DBO de los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales. Entre los procesos para la eliminación de estos sólidos en suspensión se encuentran el microtamizado o la filtración.

- **Adsorción:** La adsorción consiste en utilizar la propiedad que poseen ciertos materiales (adsorbentes) de fijar sobre su superficie moléculas orgánicas extraídas de la fase líquida en la que se encuentran. Este proceso de depuración es utilizado para eliminar contaminantes como son fenoles, hidrocarburos aromáticos, etc., responsables del color, olor y sabor del agua. Los productos más utilizados como adsorbentes son: gel de sílice, resinas orgánicas y preferentemente carbón activo ya que presenta una elevada área superficial.
- **Intercambio Iónico:** Consiste en la sustitución de uno o varios iones presentes en el agua a tratar por otros que forman parte de una fase sólida finamente dividida (cambiador), sin alterar su estructura física, pudiendo regenerarlo posteriormente a su estado primitivo. Algunas de las aplicaciones son: eliminación de isótopos radiactivos, descontaminación de aguas ricas en mercurio, eliminación y recuperación de cromatos y cianuros, eliminación y recuperación de antibióticos, etc.
- **Separación por membranas:** Existen tratamientos en los que se ven inmersos procesos de membrana. Entre ellos destacan la electrodialisis, la ultrafiltración, la microfiltración y la ósmosis inversa que permiten una descarga prácticamente cero de contaminantes.
- **Desinfección:** Proceso para disminuir o destruir agentes patógenos y virus que pudieran existir en el agua residual. Son muchos los agentes que se pueden utilizar para desinfectar y esterilizar una masa de agua, pero en la aplicación práctica industrial del tratamiento de aguas potables y aguas residuales, las posibilidades se reducen a unos cuantos agentes, entre los que cabe destacar el cloro, el permanganato o el hipoclorito. La desinfección puede conseguirse asimismo mediante procesos físicos como la radiación ultravioleta.
- **Eliminación de nutrientes:** La eliminación de nutrientes de las aguas residuales es una operación de gran importancia debido a que estos productos juegan un papel determinante en el fenómeno de eutrofización.

II.1.2. Línea de fangos de una estación de tratamiento de aguas residuales.

Como se ha expuesto en el apartado anterior, en el tratamiento de aguas residuales se generan una serie de subproductos denominados fangos o lodos residuales, donde se concentra la contaminación eliminada de las aguas, y cuyo tratamiento y evacuación puede ser problemática. Los lodos generados en una EDAR tienen un gran componente orgánico, por lo que son susceptibles de entrar en fase de putrefacción y provocar un decaimiento en la calidad del agua

como efluente de la planta, además de producir malos olores. Estos hechos, unidos a que en los fangos quedan retenidos una gran cantidad de organismos patógenos y a las cada vez más restrictivas condiciones de reutilización y vertido de los lodos, hacen que se tengan que tomar medidas más eficientes en estos sistemas, dándole la importancia que con respecto a las líneas globales del proceso se merecen. Esto obliga aún más a desarrollar tecnologías aptas para minimizar el impacto ambiental al que se podría llegar en caso de que no se tratasen.

La cantidad y las propiedades del fango a tratar en una planta depuradora dependen de las características de las aguas residuales de procedencia, así como del tratamiento a que sean sometidas. Los lodos que se generan en una EDAR con tratamiento biológico proceden fundamentalmente de dos puntos:

- Decantación primaria, o sedimentación pura de los elementos mayores y más pesados (*lodos primarios*).
- Decantación de los elementos menores (materia soluble) a través de su metabolización en biomasa, transformándose en una materia más pesada que el agua. La separación se realiza en el decantador secundario (lodos secundarios o biológicos).

Los lodos primarios son residuos pesados, con un contenido de materia orgánica del 60 al 70 % aproximadamente y, debido a su tamaño, de asimilación microbiana lenta. Suelen tener una concentración en peso de sólidos alta (un 3% o más). Estos fangos no han sufrido un tratamiento biológico, no se han descompuesto, por lo que son altamente inestables y putrescibles provocando, al cabo de cierto tiempo, mal olor. Su color es normalmente gris, con altos contenidos de sólidos fecales y otros tipos de desechos. Liberan fácilmente su agua de constitución y se espesan bien. Su contenido en humedad varía entre el 95-99%.

Por su parte, los lodos secundarios son los sólidos procedentes del reactor biológico y que son separados en el clarificador secundario. Hay que señalar que de estos lodos, una parte son recirculados para mantener una población microbiana adecuada en el tanque de aireación, y otra parte es eliminada constituyendo lo que se llaman “lodos en exceso”. Su materia orgánica está parcialmente descompuesta y su color es marrón oscuro. Tienen un olor a tierra húmeda no desagradable, pero en su descomposición posterior se pueden hacer sépticos y producen olores desagradables. Su contenido en humedad varía entre el 98-99,5% y son difíciles de concentrar. Pueden espesarse directamente o enviarse a la decantación primaria, donde decantan conjuntamente con los fangos primarios, dando lugar a los **fangos mixtos**. En resumen, los fangos producidos en el tratamiento primario y secundario de la línea de agua de una EDAR presentan las siguientes características:

- Tienen una gran cantidad de agua (95-99%), por lo que ocupan un volumen importante y son de difícil manipulación.
- Tienen gran cantidad de materia orgánica, por lo que entran fácilmente en descomposición (putrefacción), produciendo malos olores.

- Poseen una gran cantidad de organismos patógenos, causantes de enfermedades.

Todo ello hace que deban tratarse con sumo cuidado y en su tratamiento deben darse tres fases, encaminadas a reducir al máximo los problemas anteriormente citados:

- Reducción del agua presente en los fangos para evitar el manejo de grandes volúmenes.
- Estabilización de la materia orgánica para evitar problemas de fermentación y putrefacción.
- Conseguir una textura adecuada para que resulten manejables y transportables.

Es por esto por lo que todos los fangos necesitan una u otra forma de tratamiento. Las distintas unidades que pueden integrar un sistema de tratamiento de lodos son (Figura II.2):

- Espesamiento: esta etapa se incluye para reducir el volumen de los fangos mediante concentración o eliminación parcial del agua. El espesado se realiza, generalmente, por medio físicos, incluyendo la sedimentación por gravedad, la flotación y la centrifugación.
- Sistemas de estabilización: el objetivo es disminuir el contenido en materia orgánica de los fangos y reducir, de esta manera, el potencial para producir malos olores y entrar en fase de putrefacción. Los sistemas de estabilización se dividen en: digestión biológica (aerobia o anaerobia), estabilización química y compostaje.
- Acondicionamiento: tratamientos físico y/o químicos para eliminar el agua intersticial y favorecer la unión entre los sólidos.
- Deshidratado de lodos: operación física para reducir el contenido en humedad del fango.
- Destino final.

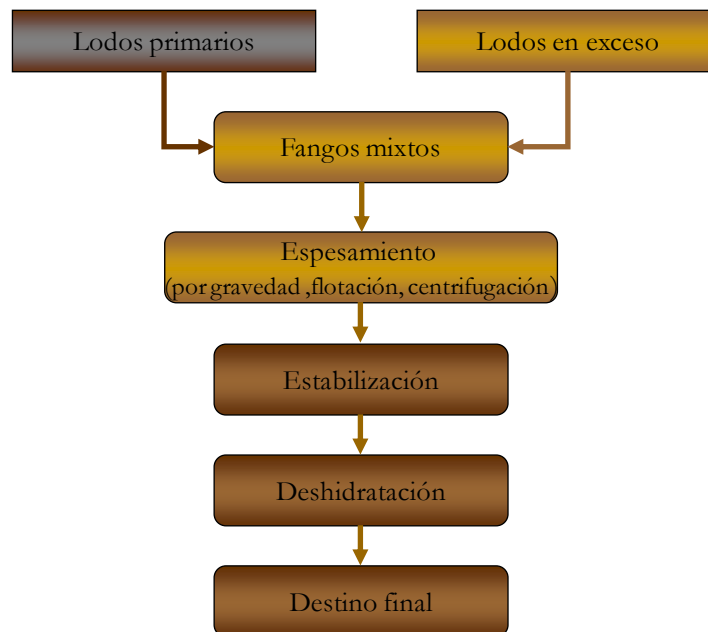


Figura II.2. Línea de fangos de una EDAR convencional

Espesamiento

22

La etapa de espesado se incluye para reducir el volumen de los fangos mediante la concentración o eliminación parcial del agua, de forma que, por ejemplo, los fangos activados que normalmente se bombean desde los tanques de decantación secundaria con un contenido de sólidos del 0,4 % pueden espesarse hasta un contenido del 4% de sólidos, consiguiéndose de esta manera una reducción del volumen de fango a una quinta parte del volumen inicial.

El espesado se realiza, generalmente, por medios físicos, incluyendo la sedimentación por gravedad, la flotación y la centrifugación. El equipo a instalar depende de las características de los fangos a tratar y estas dependen a su vez de las características de las aguas residuales de procedencia así como del tratamiento al que sean sometidas. En la Tabla II.2 se muestran algunas de las instalaciones específicas para el espesamiento en función del tipo de fango recibido.

La reducción de volumen obtenida por concentración del fango es beneficiosa para los procesos que ocurren posteriormente al espesamiento, tanto desde el punto de vista de la capacidad de los tanques y equipos, como de la cantidad de productos químicos necesarios para el acondicionamiento del fango.

Tabla II.2. Espesadores utilizados en función de las características de los lodos así como sus rendimientos

Tipo de fango	Método	Frecuencia de uso / éxito obtenido
Primario crudo	Gravedad	En aumento, excelentes resultados
Primario+fango activado	Gravedad	Utilizado a menudo. Resultados satisfactorios entre 4-6% de fango
Fango activado en exceso	Gravedad	Nunca se utiliza. Resultados pobres
Primario+activado en exceso digerido	Gravedad	Utilizado mínimamente. Uso en reducción de productos químicos antes de deshidratación.
Primario+ fango activado	Flotación	Cierto uso limitado
Fango activado en exceso	Flotación	En aumento. Buenos resultados
Fango activado	Centrífuga de camisa maciza	Cierto uso limitado. Problemas de captura de sólidos.
Fango activado	Centrífuga de discos	Cierto uso limitado. Actualmente se está acumulando datos.

Estabilización

En esta unidad el fango se somete a una serie de tratamientos al objeto de alcanzar un grado de estabilidad de forma que se alcance el objetivo de reducir el potencial de biosólidos resultantes para producir olores y entrar en fase de putrefacción, minimizar el contenido en potencial patógenos y de su volumen, preparándolos para tratamientos posteriores y/o para su posterior aplicación sobre el terreno.

Para estabilizar los lodos a través de la disminución del contenido en materia orgánica, y por lo tanto, la reducción biológica de los mismos, se usan procesos de digestión biológica (aerobia o anaerobia), tratamientos químicos o sistemas de compostaje.

Digestión biológica

Los digestores biológicos son reactores, ya sean aerobios o anaerobios, con una peculiaridad, y es que el sustrato alimenticio de los microorganismos es la materia orgánica presente o la que se produce como consecuencia de la lisis celular, así como otros microorganismos que sirven de alimento a predadores. Con los sistemas biológicos se consigue:

- La reducción de la masa total del lodo por eliminación de parte de la materia volátil.
- La reducción de microorganismos patógenos.
- Un lodo digerido rico en nutrientes.

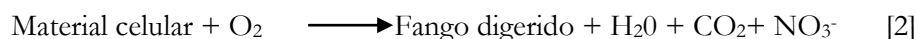
A continuación, se explica brevemente las principales diferencias entre los procesos de digestión aerobia y anaerobia.

Digestión aerobia

La digestión aeróbica de lodos está basada en el principio biológico de respiración endógena, la cual se lleva a cabo cuando el aporte de sustrato viable se reduce y los microorganismos empiezan a consumir su propio protoplasma para obtener energía para el mantenimiento de las reacciones celulares.

Durante el proceso de respiración endógena de la digestión aeróbica, el tejido celular es oxidado aeróbicamente a dióxido de carbono, agua, y amonio o nitratos, produciéndose una liberación de energía, constituyendo por tanto un proceso exotérmico. Aunque la digestión debiera, teóricamente, llegar a completarse en su totalidad, en la realidad solamente se oxida entre el 75-80 % del tejido celular; el restante 20 a 25 % está compuesto de componentes inertes y compuestos orgánicos que no son biodegradables. El material que permanece después de la completa digestión presenta un estado de baja energía y es biológicamente estable, por lo que es apropiado para las distintas opciones que se le den en su disposición final.

El proceso completo de digestión aeróbica de la materia orgánica consta de dos etapas: la oxidación directa de materia biodegradable y la subsiguiente oxidación del material celular microbiológico por parte de los microorganismos. Estos procesos pueden ser ilustrados de la forma siguiente:



La oxidación de la materia orgánica a materia celular se describe con la ecuación 1. Esta materia celular es seguidamente oxidada a fango estabilizado. El proceso representado por la ecuación 2 es la típica del proceso de respiración endógena y es la reacción predominante en el sistema de digestión aeróbica de lodos.

Digestión anaerobia

En este sistema de digestión, los lodos producidos a lo largo de la línea de aguas se someten a digestión en ausencia de oxígeno libre y por la acción de los microorganismos anaerobios. De esta forma, la materia orgánica es convertida en metano por medio de una población compleja de microorganismos con actividades metabólicas individuales a distintos niveles tróficos. El producto final de estas reacciones combinadas es metano y anhídrido carbónico.

Se han propuesto varios esquemas para describir el proceso. El más aceptado es el que se presenta de forma resumida en la Figura II.3 y que consta de tres pasos llevados a cabo por grupos de bacterias distintas:

1. **Hidrólisis:** En este paso se produce la disolución y rotura (por fermentación) de los grandes biopolímeros (almidones, proteínas, etc.) para dar moléculas más pequeñas como productos finales. Las bacterias que realizan esta etapa se denominan hidrolíticas y son bacterias anaerobias estrictas.
2. **Acetogénesis:** En esta etapa las bacterias toman los productos finales que dejan las hidrolíticas y los llevan a ácido acético o fórmico, anhídrido carbónico e hidrógeno. Las bacterias que intervienen se denominan acetogénicas.
3. **Metanogénesis:** Esta etapa es realizada por bacterias estrictamente anaerobias, las metanogénicas, que son capaces de utilizar el CO_2 , H_2 , NH_3 y los ácidos acético y fórmico en presencia de sales minerales para la síntesis de sus constituyentes celulares; producen además metano como producto de desecho, a tal velocidad que una bacteria da su volumen de gas cada treinta segundos. Se podría decir que son las más importantes del proceso ya que son las que controlan el mismo.

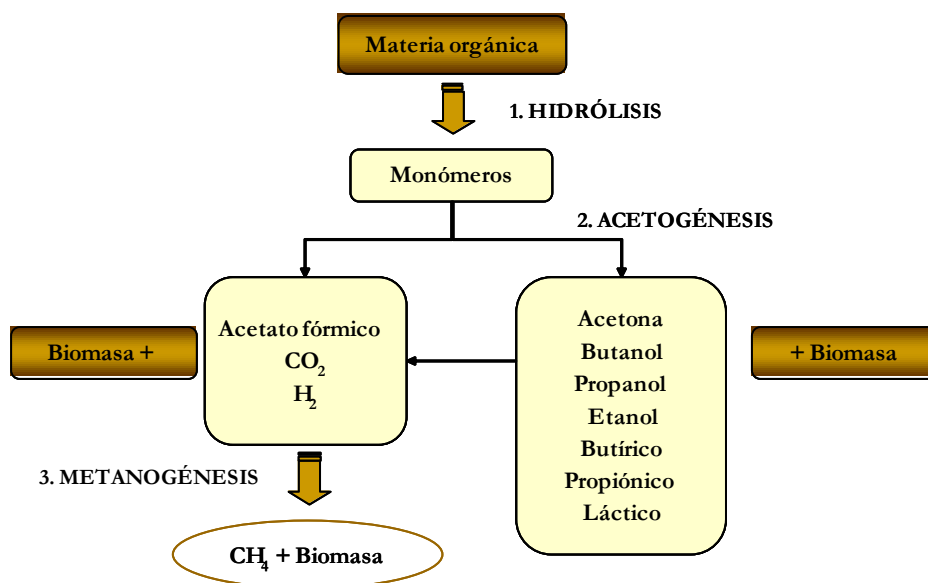


Figura II.3. Etapas bioquímicas de la biometanización

Las bacterias anaerobias se caracterizan por presentar un crecimiento lento y ser sensibles a los cambios del ambiente que les rodea (especialmente las bacterias metanógenas). Por ello, es necesario el estudio de los parámetros limitantes del proceso y su interrelación.

La temperatura es un parámetro de capital importancia ya que los mecanismos metabólicos de la célula y los balances energéticos dependen de ésta. Según el rango de temperaturas estarán más favorecidas unas poblaciones u otras. En cualquier caso, el proceso no es muy efectivo por debajo de los 20 °C.

Los requerimientos de nutrientes son inferiores en los procesos anaerobios respecto a los aerobios, debido a la menor extensión de las reacciones de síntesis celular. Los nutrientes deben estar en forma directamente asimilables por los microorganismos. Los principales nutrientes son C, N y P. Como valores orientativos se puede decir que en la digestión anaerobia la relación C/N/P es de 100/0,5/- mientras que para la estabilización aerobia es 100/5/1.

El rango óptimo de pH para la digestión anaerobia es 6,8- 7,5, pero el proceso aún ocurre satisfactoriamente en el rango 6,0-8,0. Bajo condiciones más ácidas el proceso se para. El pH, la acidez y la alcalinidad están relacionados. Una alcalinidad alta es indicador de que el sistema está salvaguardado contra fluctuaciones del pH, mientras que una baja alcalinidad indicaría que un repentino aumento en la concentración del ácido podría hacer disminuir el pH de modo que se impidiese la actividad biológica.

Es esencial para una óptima aplicación del proceso un conocimiento adecuado acerca de las toxinas e inhibidores más importantes. Por ejemplo, altas concentraciones de sodio (alrededor de 8 g/L) y de amonio (3 g/L) suponen una gran toxicidad. Además los iones metálicos así como compuestos organoclorados son muy tóxicos incluso en pequeñas concentraciones.

Estabilización química

El uso de la estabilización química queda prácticamente reducido a la estabilización con cal, aunque también se ha empleado la oxidación con cloro. El proceso es muy sencillo y se basa en añadir la cantidad de cal necesaria para mantener al lodo a pH 12 durante al menos 2 horas.

La estabilización con cal es utilizada ampliamente y con una buena aceptación económica, ya que se ha usado tradicionalmente para reducir olores, acondicionar el fango previamente a instalaciones de secado, aumentar el pH en digestores y para eliminar el fósforo. Con estos precedentes, la estabilización con cal se ha convertido en la actualidad en el proceso de estabilización de fangos en numerosas depuradoras de aguas residuales de pequeño y mediano tamaño, donde la inversión y la consiguiente explotación de las instalaciones de otro sistema de estabilización no resulten rentables. También es común emplear la estabilización con cal en las siguientes situaciones:

- Como sistema complementario de estabilización durante los periodos en que las instalaciones de otros sistemas de estabilización (como la digestión o la incineración) están fuera de servicio.
- Como sistema complementario a los procesos de digestión cuando hay una cantidad de fangos mayor a la cantidad prevista en el diseño de las instalaciones.

La cantidad de cal necesaria para alcanzar la estabilización de los fangos es variable y depende del tipo y origen del fango (ver Tabla II.3).

Tabla II.3. Cantidad de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ necesaria para mantener el pH por encima de 12 durante 2 horas

Tipo de fango	Concentración de sólidos (%)		Dosis de cal Kg $\text{Ca}(\text{OH})_2$ /ton sólidos secos	
	Intervalo	Valor medio	Intervalo	Valor medio
Primario	3-6	4,3	60-170	120
Exceso de fango activado	1-1,5	1,3	210-430	300
Mezcla digerida por vía aerobia	6-7	6,5	140-250	190
Líquido de fosas sépticas	1-4,5	2,7	90-510	200

La estabilización con cal se integra en la línea de fangos de una depuradora bien antes del secado (estabilización previa), o después de la unidad de secado (post-estabilización). Aunque la pre-estabilización es más frecuente, la post-estabilización tiene importantes ventajas, particularmente por los requerimientos más reducidos de cal. Este sistema requiere un equipamiento adecuado y la dosificación de polielectrolitos bien ensayados para obtener sequedades suficientes en los procesos de secado. En depuradoras de gran tamaño la dosificación de una sal de hierro junto con cal para acondicionar los fangos aumenta la sequedad tras los procesos de pre-estabilización. La adición de cal viva al fango deshidratado aumenta también la sequedad en los procesos de post-estabilización.

Tanto los procesos de pre-estabilización como los de post-estabilización requieren inversiones bajas, son sencillos de operar y dan buenos resultados. Los patógenos y los olores se reducen de forma importante y los fangos así estabilizados se pueden aplicar a cultivos como buena fuente de nitrógeno. El principal hándicap de este proceso es que el volumen de residuo final, aunque estabilizado, aumenta considerablemente.

Acondicionamiento

El acondicionamiento previo al deshidratado implica tratamientos químicos y/o físicos del fango para eliminar el agua intersticial y favorecer la unión entre los sólidos. Los tres sistemas de acondicionamiento más comunes usan productos químicos inorgánicos, polímeros orgánicos o calor.

La finalidad del **acondicionamiento químico** es conseguir una aglomeración de las partículas en forma de flóculos. Los reactivos que se emplean pueden ser de origen mineral u orgánico.

Normalmente los reactivos minerales se adaptan mejor a una deshidratación por filtros de vacío y filtros prensa, y los reactivos orgánicos, a las centrifugas y filtros banda.

El cloruro férrico y la cal son los reactivos minerales más empleados y conducen a la formación de un flóculo relativamente fino y estable. También se emplean sales ferrosas y diferentes sales de aluminio.

Los polielectrolitos orgánicos están constituidos por largas cadenas monomoleculares y que producen una floculación extremadamente diferenciada por formación de puentes entre partículas, gracias a las largas cadenas ramificadas. Según la constitución de los polielectrolitos estos pueden ser catiónicos o aniónicos. El uso de uno u otro depende de las características y contenido orgánico de los fangos.

Por su parte, el **tratamiento térmico** es un proceso de estabilización y acondicionamiento del fango que comporta su calentamiento hasta una temperatura de 160-210°C, bajo presión durante cortos periodos de tiempo (presiones de 1.720 a 2.750 kPa durante 15-40 minutos). El tratamiento térmico se emplea para la coagulación de sólidos, romper la estructura del gel y destruir la afinidad al agua de los sólidos contenidos en el fango. Como consecuencia de ello, el fango se esteriliza y deshidrata rápidamente. La mayor aplicación del proceso térmico se centra en fangos biológicos que puedan resultar difíciles de estabilizar o acondicionar por otros medios. Los elevados costes de inversión de los equipos asociados suelen limitar su aplicación a plantas de grandes dimensiones o a instalaciones en las que el espacio disponible pueda ser limitado.

Deshidratación

La deshidratación es, en la mayoría de los casos, la fase final en lo que a la línea de lodos se refiere. La deshidratación es una operación física utilizada para reducir el contenido de humedad del fango por alguna o varias de las razones siguientes:

1. Los costes de transporte del fango por camión hasta el lugar de su evacuación son notablemente menores cuando se reduce el volumen por deshidratación.
2. El fango deshidratado es, generalmente, más fácil de manipular que el fango espesado o líquido.
3. La deshidratación es generalmente necesaria antes de la incineración del fango para incrementar su poder calorífico por el exceso de humedad.
4. En algunos casos, puede ser necesaria la eliminación de humedad para lograr que el fango sea totalmente inodoro y no putrescible.
5. La deshidratación del fango se precisa, normalmente, antes de su vertido a vertederos controlados para reducir la producción de lixiviados en la zona del vertedero.

En el caso de la deshidratación mecánica, los fangos deben ser previamente acondicionados, bien química o térmicamente.

La deshidratación supone una separación de agua y sólidos. Los contenidos que puedan conseguirse dependen, entre otros factores, de la composición del fango alimentado.

Entre los distintos sistemas de deshidratación existente cabe destacar los siguientes: lechos de secado, filtros de vacío, centrífugas y los filtros banda.

Destino final (evacuación de los lodos)

La producción de lodos es un proceso continuo que requiere salidas para su disposición final que sean flexibles, seguras, económica y medioambientalmente aceptables. En Europa Occidental, según datos de la Comisión Europea, entre el 40 - 50% de los lodos son utilizados en agricultura; en países con inviernos blancos, esta opción no es la más apropiada. Por otro lado el contenido en metales también limita su utilización en agricultura; el vertido al mar queda prohibido y la incineración es cara y contamina con la emisión de gases.

El sistema más adecuado para cada lodo en particular va a ser función, por tanto, de muchos factores, desde las características y composición del propio lodo hasta la climatología, pasando por aspectos económicos y del entorno social. Además, conforme vaya pasando el tiempo irán surgiendo nuevas alternativas de uso a este tipo de lodos/biosólidos. El desarrollo de estas alternativas depende de la producción de lodos con propiedades adecuadas para cada uso final, que va a depender a su vez del origen y del proceso de tratamiento que ha seguido el fango. Estas propiedades engloban la consistencia del lodo, líquido o deshidratado, su disponibilidad de nitrógeno, su estado sanitario, el grado de estabilización, olor y estructura física, además de su composición.

Al caracterizarse los lodos por tener una elevada carga orgánica (ácidos húmicos y flúvicos, restos proteicos, porcentajes variables de hidratos de carbono y compuestos orgánicos cíclicos, etc.), nutrientes y sales minerales, hace que sea un material susceptible de utilizarse en varios procesos y situaciones.

Los destinos finales que se les suelen dar a los lodos de depuradora se pueden dividir en dos bloques:

1. Métodos que consideran al lodo como un residuo sin valor. En esta línea se encuentran la incineración y el vertido al medio, que son métodos que pretenden minimizar o almacenar el volumen de lodos obtenidos.
2. Métodos que consideran al lodo como un recurso aprovechable. Aquí se incluyen la aplicación en agricultura, el uso para regeneración de terrenos, la reforestación y la recuperación de compuestos deseables, entre otros métodos.

La gestión final de los fangos y la problemática asociada a la misma serán expuestos con más detalle en un apartado posterior en este capítulo de Antecedentes Bibliográficos.

Ante la variedad de tecnologías aplicables al tratamiento de los lodos, se han de establecer una serie de criterios que permitan seleccionar aquellos sistemas y/o esquemas de tratamiento que mejor se adapten a las necesidades y condiciones existentes. Los criterios básicos que se han de considerar consisten en:

1. La minimización del impacto ambiental.
2. La reducción de la cantidad de fango producido.
3. La optimización del coste económico de la eliminación de los fangos.
4. La adopción de tecnologías contrastadas.
5. La simplificación del trasiego de los fangos.
6. El cumplimiento de la legislación vigente.
7. La aceptación social de las soluciones planteadas.

Como se puede observar, los factores a considerar en la elección de los métodos de tratamiento, postratamiento y eliminación final no son exclusivamente de tipo económico. En primer lugar, cualquier estrategia de eliminación deberá ajustarse a la legislación vigente y ser coherente con las directrices de la política global de gestión de residuos. Asimismo, es prioritario que las soluciones adoptadas no generen problemas con la comunidad local. En este sentido, debe evitarse cualquier tipo de molestia que pueda provocarse en cada una de las etapas del proceso.

Existe una estrecha relación entre las cantidades de fango a eliminar y la idoneidad de los procesos. Así, el diseño de grandes plantas incluirá, en general, instalaciones de digestión, deshidratación y almacenamiento, tanto para reducir las molestias ocasionadas a la población como para disminuir los costes de transporte y eliminación final. Por otra parte, es en las instalaciones de gran capacidad donde es posible un mejor rendimiento de las economías de escala. Por el contrario, en las pequeñas instalaciones de depuración no se incorpora, normalmente, línea de tratamiento de fangos siendo estos residuos transportados a plantas depuradoras de gran entidad que sí disponen de unidades de tratamiento de lodos.

También es fundamental la relación entre la calidad del fango y el posible destino final. En los casos donde no existe un control eficaz de los vertidos industriales a la red de alcantarillado, es previsible la presencia de metales pesados y compuestos orgánicos potencialmente tóxicos en la composición de los fangos.

Otro aspecto determinante en la elección del proceso es la localización de la planta depuradora. Se considera como caso típico favorable para el aprovechamiento agrícola, el de las pequeñas plantas que sirven a municipios rurales. En el extremo opuesto figura el caso de las plantas de

grandes dimensiones, localizadas cerca de núcleos urbanos, para los cuales los análisis de alternativas resultan más complejo y donde las posibilidades de eliminación final de este tipo de fangos quedan reducidas a las alternativas de vertido, bien de forma directa o después de su incineración.

Teniendo todo esto en cuenta, el tratamiento de los fangos producidos como un subproducto de las operaciones de tratamiento de las aguas residuales (eliminándolo de los líquidos, decantándolo, estabilizándolo,...) debe ser considerado como procesos operacionales y técnicos. Es imperativo que el diseño reconozca la importancia de la porción de lodo extraída de las plantas y ser tan diligentes en estos diseños como en el resto de los procesos.

II.2. El sistema de lodos activos.

Los procesos biológicos de cultivo en suspensión aerobio, consisten en provocar el desarrollo de un cultivo en suspensión de microorganismos aerobios capaces de asimilar la materia orgánica biodegradable presente en el agua residual, y a través de procesos biológicos de síntesis, oxidación y endogénesis, producir su eliminación del influente líquido. Los principales procesos de tratamiento de cultivo en suspensión son el proceso de lodos activos, las lagunas aireadas, y el proceso de digestión aerobia de lodos. De todos ellos, el proceso de lodos activos es, con diferencia, el más ampliamente utilizado, y al que se hará referencia en este apartado.

II.2.1. Introducción al proceso de lodos activos.

En general, el proceso de lodos activos (lodos activados o fangos activados) es el sistema biológico de depuración más extendido actualmente para tratar aguas residuales, tanto domésticas como industriales y sus aplicaciones han aumentado a medida que se ha avanzado en el conocimiento de la microbiología, cinética y bioquímica relacionada con el proceso.

La denominación del proceso proviene de la producción de una masa activada de microorganismos capaz de estabilizar un residuo por vía aerobia. En la actualidad, existen muchas versiones del proceso original, pero todas con la misma base científica (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995).

Un esquema representativo del proceso es el que se recoge en la Figura II.4. A escala industrial, el proceso de depuración de aguas residuales por lodos activos consta de dos etapas bien diferenciadas:

1. una primera etapa de aireación, que tiene lugar en el denominado *tanque de aireación*, en la que se produce la asimilación y degradación de la materia orgánica por parte de los microorganismos,
2. una segunda etapa en donde se lleva a cabo la sedimentación de los lodos generados en la primera, en el llamado clarificador o *decantador secundario*.

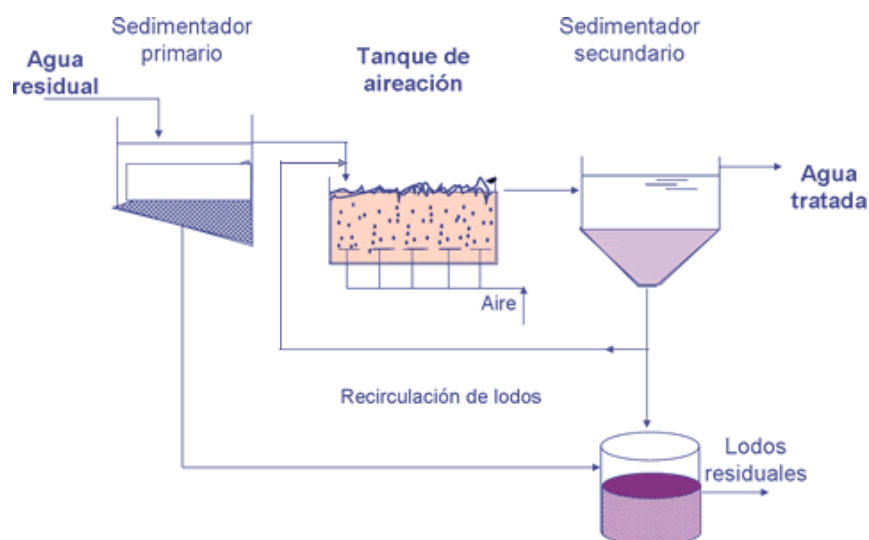


Figura II.4. Esquema del proceso convencional de lodos activos

Teniendo en cuenta estas dos etapas, y según se representa en el esquema, el proceso de tratamiento por lodos activos consta de un *reactor o tanque de aireación* (reactor aerobio), bien mezclado y agitado, en el que se pone en íntimo contacto y de forma continua el agua residual a tratar, cargada de materia orgánica disuelta con los microorganismos responsables del proceso (fundamentalmente bacterias, hongos, algas, protozoos, rotíferos,... denominados genéricamente lodos activos o biológicos), que se encuentran en suspensión en el seno del reactor. En condiciones no limitantes de oxígeno y sustrato se alcanzan velocidades extremadamente altas de crecimiento y actividad microbiana, con el correspondiente consumo de materia orgánica y transformación a productos finales estables e inertes, y nuevo material celular derivado de la biosíntesis. La denominación de “activos o activados” se refiere a su carácter activo adsorbiendo y degradando materia orgánica. Esta adsorción es inicialmente rápida pero luego requerirá un tiempo mucho más largo para que sea degradada y, por tanto, en volver a adsorber nueva materia orgánica.

El sistema opera con una entrada de alimentación y salida de efluente del proceso constante. Mediante dispositivos mecánicos tales como *turbinas o agitadores* se consigue la agitación y homogeneización del medio, necesaria para favorecer el íntimo contacto entre la biomasa y la alimentación y evitar, de este modo, posibles limitaciones del proceso por transferencia de materia. Esta agitación se puede conseguir, asimismo, mediante una distribución adecuada de la alimentación o a partir de la propia aireación del sistema.

El contenido del reactor es conocido como licor mezcla y se representa por MLVSS (mezcla de agua y sólidos en suspensión).

El oxígeno, necesario para el desarrollo de la actividad microbiana, se suministra a partir de compresores de alta capacidad, a través de difusores (de burbuja fina o gruesa) o bien mediante aireadores mecánicos (superficiales o sumergidos), para favorecer la disolución del oxígeno

atmosférico. En la mayoría de los casos se utiliza aire en cantidades adecuadas para evitar posibles fenómenos de limitación del proceso biológico por este elemento, el cual se usa:

- a) para satisfacer la DBO necesaria para degradar el sustrato del vertido ($0,5 \text{ kgDBO/m}^3 \cdot \text{d}$)
- b) para satisfacer la respiración endógena de los organismos del lodo
- c) para proporcionar el mezclado adecuado
- d) mantener una concentración mínima de oxígeno en el tanque de aireación comprendido entre $1\text{-}2 \text{ mg/l}$ (para que no constituya una limitación por transferencia al difundir hasta el interior de flóculos).

Cuando el nivel de O_2 limita el crecimiento, pueden predominar los microorganismos filamentosos (colonias de *Sphaerotilus*) empobreciendo las características de sedimentabilidad y calidad del fango.

En condiciones óptimas de funcionamiento, la materia orgánica presente en el vertido sirve de sustrato o alimento a los microorganismos, los cuales la utilizan para llevar a cabo sus funciones vitales, fundamentalmente la síntesis y el mantenimiento celular, como será detallado más adelante.

Así, como consecuencia del metabolismo implicado, la población bacteriana se reproduce constantemente y, consecuentemente, aumenta su concentración en el seno del reactor. Este aumento es compensado por el hecho de que, dado que el reactor no presenta ningún dispositivo de retención de biomasa, transcurrido el tiempo hidráulico de retención (t), parte de la misma se evacua de forma conjunta y continua con el efluente del proceso hasta alcanzar el conocido “estado estacionario o pseudoestacionario”, estado en el que la cantidad de microorganismos existentes en el interior del reactor permanece constante, al igual que todas las variables de estado del sistema.

Este estado estacionario implica, por tanto, un equilibrio dinámico entre los microorganismos que crecen en el seno del sistema, en virtud de las reacciones de síntesis celular, y los que abandonan el mismo arrastrados conjuntamente con el efluente, considerando, además, aquella fracción de los mismos que mueren o se inactivan durante el proceso.

Admitiendo que los microorganismos necesitan un tiempo mínimo para su reproducción (tiempo de duplicación), se deduce que este parámetro, el tiempo, es el que controla la velocidad o capacidad global del tratamiento depurativo, o sea, la velocidad de salida de los microorganismos del sistema. En cualquier otro caso, cuando el tiempo hidráulico de retención (THR, que, en este caso, coincide con el tiempo de residencia de sólidos, TRS) sea menor que la velocidad de crecimiento de los microorganismos, se producirá el fenómeno conocido como “lavado de la población bacteriana”, situación en la cual los microorganismos son completamente evacuados del reactor por el efluente.

Efectivamente, a partir de un balance de materia aplicado a la biomasa en el tanque de aireación, considerando la velocidad de dilución $D = t^{-1} = Q_0/V$ y la velocidad de crecimiento celular $(r_x) = \mu X$, se obtiene:

$$(dX_{V,a}/dt) = \mu X_{V,a} - DX_{V,a}$$

donde $X_{V,a}$ es la concentración de microorganismos en el reactor.

En condiciones de estado estacionario la velocidad específica de crecimiento se iguala a la velocidad de dilución: $\mu = D$

El valor μ aumenta al hacerlo el sustrato de entrada (medido como DQO, DBO, COT, ...) siguiendo la expresión de Monod ($\mu = \mu_m \cdot [S/(K_s+S)]$), que será desarrollada en un apartado posterior.

Si como ocurre normalmente $S \gg K_s$ se tiene que $\mu = \mu_m$, lo cual es un criterio muy útil en el momento de seleccionar un valor de D apropiado, ya que deberá cumplirse que $D < \mu_m$. En caso contrario ocurrirá el "lavado" del cultivo, debido a que la velocidad de salida de las células del biorreactor será mayor que la de crecimiento. Por tanto, si la velocidad de dilución es mayor que el valor máximo de la constante de crecimiento μ se producirá el arrastre de las células del interior del reactor. Esta es la velocidad crítica de dilución ($D_c = \mu_m$).

Al ser la velocidad de dilución inversamente proporcional al volumen del reactor, este parámetro es contrario a los criterios económicos que imperan en la construcción de cualquier planta de tratamiento. En otras palabras, desde el punto de vista económico interesa que las plantas sean del tamaño más pequeño posible; no obstante, la velocidad de crecimiento celular es la que limita la capacidad de tratamiento del sistema de forma que para cada caudal específico de alimentación a tratar existe un volumen mínimo de instalación necesario para alcanzar un determinado grado de depuración.

En este sentido, para aumentar la capacidad de tratamiento de la unidad de lodos activos se recurre a la recirculación parcial de los lodos biológicos que abandonan el reactor. Para ello, el efluente del tanque de aireación (consistente en una mezcla de agua y sólidos en suspensión), se lleva a un dispositivo de separación (clarificador o decantador secundario) en donde flocula y sedimenta fácilmente formando un lodo, y quedando un efluente clarificado que constituye la corriente efluente final de salida del proceso. De esta forma se evita la salida de todos los microorganismos a través del efluente final. Un porcentaje de los lodos separados (normalmente entre 10-30%) se recirculan a la cabeza del reactor mediante el adecuado sistema de bombeo, aumentando considerablemente la concentración de microorganismos en el seno del reactor y, por tanto, el tiempo de residencia de los mismos en el tanque. Esto hace que el tiempo de retención de sólidos aumente considerablemente frente al tiempo hidráulico de retención, objetivo que favorece el diseño, evita el lavado de la población y consigue mayores rendimientos en la depuración. El objetivo de la recirculación es, por tanto, mantener una concentración suficiente de lodos en el sistema para alcanzar el grado de tratamiento exigido en el intervalo de tiempo deseado.

Además, puesto que es necesario mantener una concentración de biomasa constante en el seno del sistema, y éste se está continuamente reproduciendo en el mismo como consecuencia del metabolismo implicado, es necesario proceder a purgas periódicas del contenido de lodos en el interior del reactor (para eliminar la producción neta de lodos en el tanque, ΔX_v , kgMLVSS/d). Este fango purgado se descarga en el clarificador primario, donde se mezcla y sedimenta con el fango primario, o bien va a parar a alguna unidad de tratamiento del fango.

II.2.2. Diagrama de flujo del proceso de lodos activos y variables del sistema

El diagrama de flujo del proceso de lodos activos es el que se representa en la Figura II.5. Cada una de las siete corrientes indicadas queda perfectamente caracterizada a partir de su caudal Q , y de las correspondientes variables de estado: concentración de materia orgánica soluble, S (DBO, DQO, COT,...), la concentración de microorganismos viables o activos (MLVSS, VSS, ...) y la concentración de biomasa inactiva o muerta (MLNVSS, NVSS).

Los microorganismos se representan por X y los subíndices representan el carácter volátil (V) o no volátil (NV), y el segundo subíndice la corriente que se está considerando.

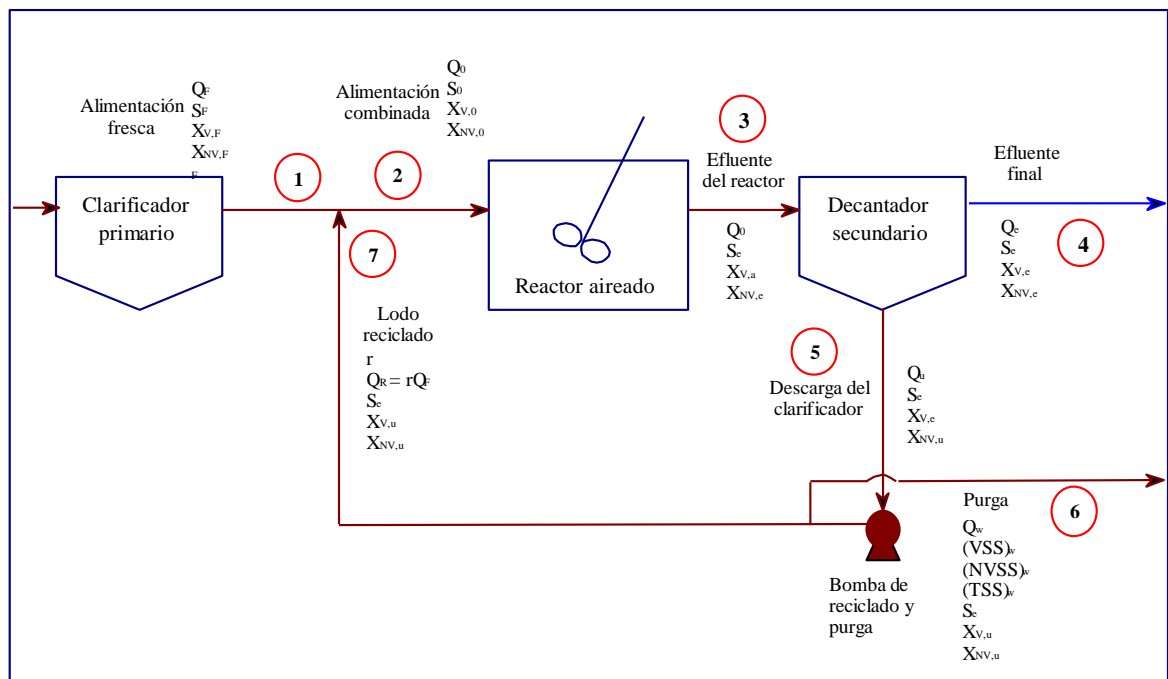


Figura II.5. Diagrama de flujo del proceso de lodos activos (Ramalho, 1996).

En la Tabla II.4 se resumen las principales variables asociadas a cada corriente.

Tabla II.4. Variables del proceso y descripción de corrientes

Corriente	Descripción	Caudal (m ³ /d)	Sustrato (kg/m ³)	Microorganismos (kg/m ³)
1	Alimentación fresca	Q_F	S_F	XV_F
2	Alimentación combinada	$Q_0 = Q_F (1+R)$	S_0	XV_0
3	Efluente tanque aireación	Q_0	S_e	XV_a
4	Efluente final	Q_e	S_e	XV_e
5	Descarga clarificador	Q_u	S_e	XV_e
6	Purga	Q_w	S_e	XV_u
7	Reciclado	$Q_R = RQ_F$	S_e	XV_u

Los parámetros básicos de funcionamiento de cada una de las unidades implicadas en el proceso son los siguientes:

Tanque de aireación

37

La concentración de sólidos volátiles en suspensión, representativa de la biomasa del sistema, oscila entre 2.000-3.000 mg/l, de los cuales aproximadamente $\frac{3}{4}$ son volátiles (fracción volátil del 80-90%).

Aunque, en principio, una mayor concentración de sólidos volátiles en suspensión supone una mayor velocidad de depuración, la velocidad del proceso de depuración está limitada por la velocidad de transferencia de oxígeno y por la sedimentación de los lodos, que se ve perjudicada ante un exceso de los mismos. Para aguas urbanas suele eliminarse del 90-95% de DBO en tiempos de residencia de 4-8 horas y razones de recirculación del orden del 10 al 30% del caudal total de entrada a la unidad.

La carga orgánica mide la capacidad de tratamiento de la unidad en kg de materia orgánica por unidad de capacidad de tanque y día, y en los sistemas convencionales por lodos activos oscila entre 0,4 y 1,2 kg DBO/m³·d

Existen, además, dos magnitudes de gran interés, la edad de los lodos, o tiempo de retención celular, y la relación A:M.

La edad de los lodos, θ_c , (d), se define como el tiempo medio que permanecen los lodos en el interior del sistema antes de ser eliminados del mismo mediante la purga con el efluente. Esta magnitud tiene un valor aproximado de 5-15 días en lodos convencionales, y es de gran interés en la adaptación de lodos a una carga y en relación con la magnitud de respiración endógena.

La edad de los lodos coincide con el tiempo de residencia de sólidos cuando la respiración endógena y los sólidos en la alimentación son despreciables. Este parámetro está inversamente relacionado con la velocidad específica de crecimiento de sustrato a partir de la expresión:

$$\theta_c = \frac{X_{v,a}V}{\Delta X_v/V} = \frac{1}{\mu}$$

En consecuencia, controlando la edad de los lodos se controla la velocidad específica de crecimiento de la biomasa en el sistema. La edad de los lodos se controla con la purga de lodo del sistema.

La segunda magnitud de interés es la intensidad de carga o relación A:M, que se define como la relación entre la carga orgánica diaria de la alimentación (kg DBO, kg DQO, ...) y la concentración de biomasa en el tanque de aireación (medida como STS, SVS, ...), y se expresa como A:M (kg de sustrato en la alimentación/(d) kg MLVSS en el reactor):

$$A:M = \frac{S_0}{X_{v,a}t_h}$$

Un valor frecuente es A:M: 0,3-0,6 kg DBO₅/kg STS·d, que favorece las características de floculación del lodo.

En estas condiciones, la velocidad específica de consumo de sustrato varía entre 0,2-0,4 kg DBO/kgMLVSS.

Unidad de sedimentación

En el tanque de sedimentación se suele aumentar de 4 a 5 veces la concentración de sólidos del tanque de aireación. La capacidad de espesamiento suele medirse a partir de la velocidad de sedimentación zonal (VSZ) o del índice volumétrico de lodos, IVL, que mide los mililitros que ocupa, por gramo de materia seca, un litro de lodo activado después de sedimentar durante 30 minutos en una probeta graduada. Los valores habituales, para concentraciones de biomasa de 800 – 3500 mg/l oscilan entre 150 y 35 ml. Los valores adecuados de VSZ (velocidades de sedimentación zonal) oscilan en torno a 6 m/h.

Tanto el parámetro IVL como la VSZ se relacionan con la relación A:M previamente definida, de forma que existe un valor óptimo de la relación A:M para la que se consiguen las mejores

características de sedimentabilidad de los lodos. Esta dependencia se representa gráficamente (Figura II.6), a partir de los resultados obtenidos en ensayos de sedimentación en columna a escala de laboratorio (Ramalho, 1996).

Según la representación gráfica, unas condiciones óptimas de decantación implican una elevada velocidad de sedimentación zonal y un bajo índice volumétrico del lodo.

La relación A:M óptima corresponde a la zona de la curva comprendida entre los valores $0,6 > A:M > 0,3 \text{ (d}^{-1}\text{)}$, para los cuales la velocidad de sedimentación zonal (VSZ) alcanza un máximo y el índice volumétrico de lodos (IVL) un mínimo en la curva que define su relación con A:M.

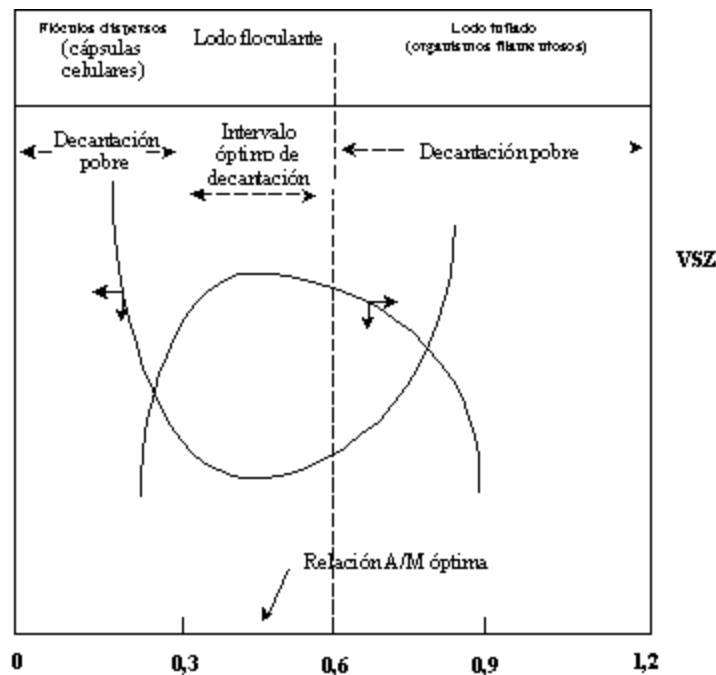


Figura II.6. Correlación típica entre IVL (índice volumétrico de lodos) y VSZ (velocidad de sedimentación zonal) con la relación A:M (intensidad de carga) (Ramalho, 1996).

Los tres casos a considerar son los siguientes:

1. Para relaciones A:M bajas, como ocurre a valores inferiores a $0,3 \text{ d}^{-1}$, la cantidad de alimento presente en el sistema es insuficiente para mantener el crecimiento de microorganismos, por lo que se ven obligados a vivir bajo condiciones de respiración endógena. Una célula típica contiene un material citoplasmático rico en proteínas y ácido ribonucleico (ARN) y es la principal porción de la célula que se metaboliza durante un proceso de respiración endógena. El residuo, a medida que queda el metabolismo endógeno, está constituido principalmente por cápsulas celulares muy ligeras que resisten la sedimentación. Esta es la razón por la que a bajas relaciones A:M el lodo tiene unas características de sedimentación

muy pobres para su decantación. El lodo obtenido bajo estas condiciones corresponde a flóculos dispersos, tal como se representa en la Figura II.6.

2. Para relaciones A:M elevadas (superiores a $0,6 \text{ d}^{-1}$), hay un predominio de un tipo de microorganismos de naturaleza filamentosa (*Sphaerotilus*). Este tipo de colonia no decanta bien, permaneciendo en suspensión casi continuamente. El lodo inflado bajo estas condiciones se denomina *bulking*.
3. Para valores de A/M comprendidos entre estos extremos, el lodo tiene buenas características de sedimentación, y se denomina floculante.

A modo de resumen:

$A:M < 0,3 \rightarrow$ metabolismo endógeno \rightarrow flóculos dispersos

$A:M > 0,6 \rightarrow$ bacterias filamentosas

$0,6 > (A:M)_{\text{opt}} > 0,3 \text{ (d}^{-1}\text{)}$

Después de lo comentado, el tanque de sedimentación o decantador secundario es un elemento integral del proceso de tratamiento por lodos activos y la eficacia global del proceso depende del adecuado funcionamiento de esta unidad. No se puede considerar el diseño de un reactor biológico independientemente del de las instalaciones de sedimentación asociadas. Éstas deben permitir tanto una adecuada capacidad de clarificación del efluente final (impuesto por la normativa), a una velocidad superficial del efluente de $30\text{-}40 \text{ m}^3/\text{m}^2\cdot\text{d}$, como de espesamiento (en el rango entre 70 a $140 \text{ kg STS}/\text{m}^2\cdot\text{d}$). El objetivo de compactar el lodo es reducir las instalaciones de bombeo al calcular el caudal de recirculación para obtener una determinada concentración de microorganismos en el tanque de aireación.

Por tanto, es necesario evitar las pérdidas de sólidos con el efluente y mantener la profundidad de la capa de fango adecuada. Para ello se calcula el caudal óptimo de recirculación y sirve de criterio de diseño del decantador secundario (cálculo del área del sedimentador) para alcanzar un determinado grado de clarificación del efluente o de compactación del fango.

Finalmente, merece comentar que el clarificador primario, si bien no forma parte del esquema global del proceso de lodos activos, sirve para eliminar la materia orgánica en suspensión presente en el vertido y evitar sobrecargas orgánicas en la unidad de tratamiento biológico: controlar “A” de la relación A:M.

De las múltiples posibilidades de combinar los parámetros de operación se obtienen las distintas modificaciones del proceso de lodos activos. En la Tabla II.5 se muestran los parámetros típicos de diseño para distintas modalidades del sistema de lodos activos.

Tabla II.5. Parámetros de diseño para el sistema de lodos activos (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995)

Modificación del proceso	Edad del fango, θ_c (d)	A:M (kg DBO ₅ aplicada · kg ⁻¹ SVSLM · d ⁻¹)	Carga volumétrica (kg DBO ₅ aplicada · m ⁻³ · d ⁻¹)	Sólidos en suspensión (mg/l)	Tiempo hidráulico de residencia, (h)	Qr/Q
Convencional	5 – 15	0,2 – 0,4	0,32 – 0,64	1.500 – 3.000	4 – 8	0,25-0,75
Mezcla completa	5 – 15	0,2 – 0,6	0,80 – 1,92	2.500 – 4.000	3 – 5	0,25-1,0
Aireación prolongada	20 – 30	0,05 – 0,15	0,16 – 0,40	3.000 – 6.000	18 – 36	0,5-1,50
Alta carga	5 – 10	0,4 – 1,5	1,60 – 1,60	4.000-10.000	2 – 4	1,0-5,0

II.2.3. Microorganismos presentes en el sistema de lodos activos.

Como se ha comentado con anterioridad, todos los procesos biológicos de depuración se caracterizan porque el elemento depurador básico lo constituye la microbiota presente en los reactores. En este apartado se exponen las características principales de los microorganismos más habituales en el sistema de fangos activos desde el punto de vista del tratamiento de las aguas residuales. Prácticamente todo tipo de microorganismos actúan en estos procesos dominando unos u otros según las circunstancias en que se produzcan y el estado de madurez del sistema.

41

Bacterias

Las bacterias son organismos procariotas unicelulares, siendo las formas de vida más sencillas en cuanto a estructura y se cree que son las formas de vida que primero aparecieron sobre la tierra. Son muy pequeñas, entre 1 a 3 μm de longitud y 0,5 a 1,5 μm de diámetro. No obstante, existen unas células bacterianas, los micoplasma, que únicamente miden 0,2 μm .

Su modo habitual de reproducción es por escisión binaria, aunque algunas especies se reproducen sexualmente o por gemación. Normalmente una célula bacteriana posee una forma elipsoidal, esférica, alargada o en espiral. Todas estas características sirven para poder clasificarlas. Las células bacterianas en forma de esfera, o ligeramente alargada, se denominan cocos, las células bacterianas de forma alargada se denominan bacilos. Algunas células pueden aparecer en forma de espiral, son los denominados espirilos, que suelen aparecer como células individuales, algunas veces esta espiral se halla en forma incompleta y entonces la célula pasa a denominarse vibrio.

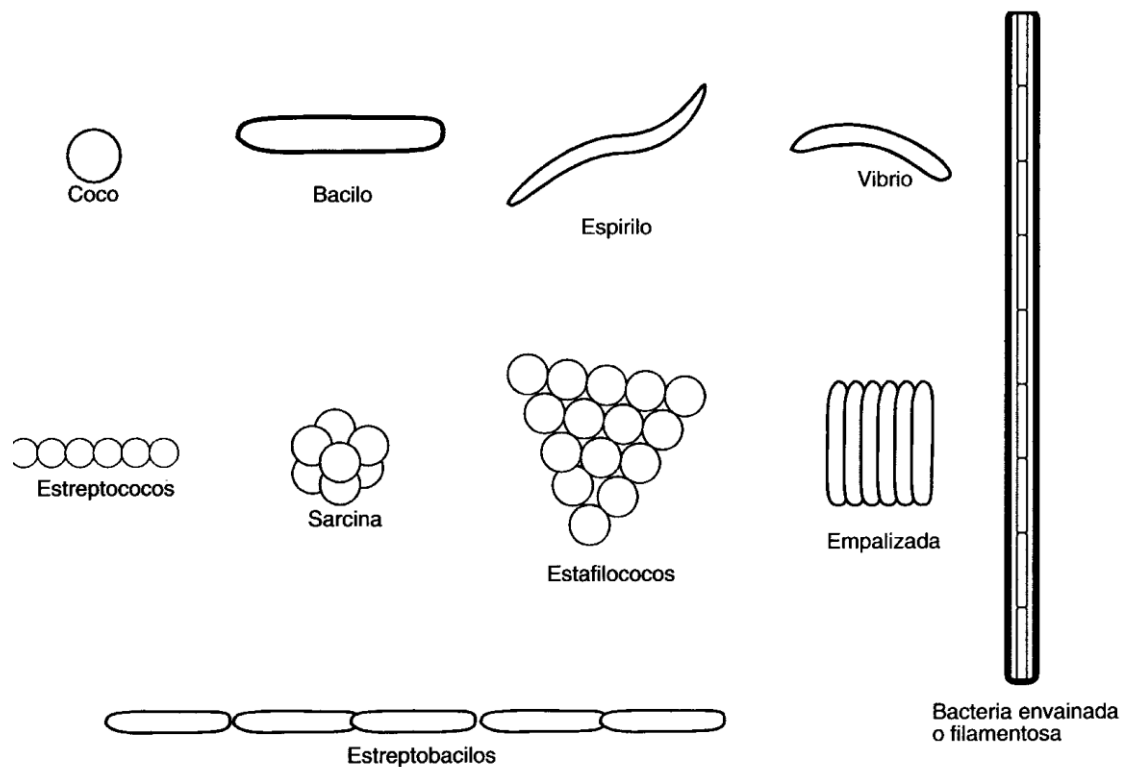


Figura II.7. Distintas morfologías y agrupaciones bacterianas

Los microorganismos se componen entre un 70 y 90 % de materia orgánica y un 10 a 30 % de materia inorgánica. La composición típica elemental de las bacterias se muestra en la Tabla II.6.

Tabla II.6. Composición típica de las células bacterianas (Tchobanoglous G. y Burton F., 1995)

Elemento	Peso seco, %	Elemento	Peso seco, %
Carbono	50	Sodio	1
Oxígeno	20	Calcio	0,5
Nitrógeno	14	Magnesio	0,5
Hidrógeno	8	Cloro	0,5
Fósforo	3	Hierro	0,2
Azufre	1	Otros	0,3
Potasio	1		

Como se observa en la tabla anterior, solamente cuatro elementos (carbono, oxígeno y nitrógeno e hidrógeno) suponen alrededor del 90% del peso seco de la célula. Estos elementos, además de fósforo y azufre, son los que forman las macromoléculas celulares. El cuatro por ciento restante del peso celular incluye un gran número de elementos tales como potasio, sodio, calcio, magnesio, cloro, hierro, manganeso, cobalto, cobre, oro, cinc, molibdeno, entre otros. Son elementos requeridos en una cantidad muy pequeña, y conocidos con el nombre de elementos traza. Es difícil establecer la cantidad de estos elementos que es necesaria para la realización de las actividades fisiológicas de las células, así como la cantidad a partir de la cual son contaminantes.

Las condiciones ambientales de temperatura y pH tienen un papel importante en la supervivencia y crecimiento de las bacterias. A pesar de que las bacterias pueden sobrevivir en un intervalo bastante amplio de temperatura y de pH, el crecimiento óptimo se suele producir en un intervalo muy restringido de valores de estos dos parámetros. Las temperaturas por debajo de la óptima tienen efectos más importantes sobre el crecimiento bacteriano que las superiores a aquella; se ha podido comprobar que las tasas de crecimiento se doblan por cada aumento de 10 °C en la temperatura ambiental hasta alcanzar el valor óptimo. Según el intervalo de temperatura en el que el desarrollo bacteriano es óptimo, las bacterias se pueden clasificar en psicrófilas, mesófilas y termófilas. Los intervalos de temperatura óptima típicos para las bacterias de estas tres categorías señaladas aparecen en la Tabla II.7.

Tabla II.7. Clasificación de las bacterias según el intervalo de temperatura en el que se desarrollen (Lora y Miró, 1978).

Bacterias	Temperatura (°C)	
	Intervalo	Óptima
Psicrófilas	-2 a +20	+12 a +18
Mesófilas	+20 a +45	+25 a +40
Termófilas	+45 a +75	+55 a +65

El pH del medio ambiente también constituye un factor clave en el crecimiento de los organismos. La mayoría de las bacterias no toleran niveles de pH por debajo de 4,0 ni superiores a 9,5. En general, el pH óptimo para el crecimiento bacteriano se sitúa entre 6,5 y 7,5.

El número de bacterias viables estimadas en la mezcla líquida de una unidad de lodos activos varía entre $0,02 \times 10^{10}$ - 59×10^{10} cel/g, de acuerdo con los factores operacionales tales como edad de los lodos, variables experimentales, características del agua residual, etc. (Coello, M^a.D, 1998). Normalmente se estima que el número de bacterias viables en la mezcla líquida es de aproximadamente entre el 1-2 % del total de la biomasa (Banks *et al.*, 1976, Takii, 1977).

Las bacterias presentes en los procesos de lodos activos pueden encontrarse (Coello M^a.D., 1998):

- Como células libres dispersas en la fase líquida.
- Formado flóculos.
- Como bacterias dispersas asociadas con los flóculos.

Las bacterias dispersas y libre-nadadoras están presentes en gran número pero están constantemente siendo eliminadas por la descarga del efluente final o por depredación de los organismos superiores (protozoos), por lo que su velocidad de crecimiento debe ser alta para mantener su concentración en el sistema. Por su parte, las bacterias heterótrofas forman comúnmente la estructura de los flóculos, los cuales forman la base de la unidad ecológica de los procesos de lodos activos, con una aglutinación de células individuales junto con las bacterias filamentosas. Las bacterias filamentosas actúan, por tanto, como estructurantes de estos flóculos biológicos. No obstante, cuando estas bacterias filamentosas se desarrollan de forma extraordinaria llegan a disgregar los flóculos, interfiriendo en la sedimentación y, consecuentemente, en la compactación de los lodos. Este fenómeno se conoce con el nombre de *bulking* filamentoso. La hinchazón o *bulking* constituye un fenómeno complejo, ligado a la presencia de microorganismos filamentosos, tales como bacterias *Sphaerotilus natans*, *Thiorix* sp., *Lactobacillus* sp., *Pelonemas* o *Peloploca* sp., hongos como *Geotrichum candidum*, etc.

Las formas filamentosas son microorganismos que se desarrollan como consecuencia de unas condiciones anormales del medio (Coello M^a.D., 1998): temperatura, pH, salinidad, nivel insuficiente de oxigenación, composición especial del sustrato: exceso de glúcidos, carencia de elementos nutritivos; o bien en respuesta a unas variaciones bruscas en los parámetros de funcionamiento de las instalación: sobrecarga repentina, pérdida accidental de lodos, fuertes variaciones del grado de recirculación de los lodos, etc.

Aunque en situación de *bulking* de lodos normalmente la eficacia en la depuración no disminuye, produciendo un efluente de calidad, el *bulking* sí va a repercutir en la calidad de los lodos activados, existiendo el peligro de que éstos se acumulen en los clarificadores, dificultando y haciendo más lento el proceso de sedimentación, por lo que es preciso disminuir la alimentación de los mismos.

Hongos

Los hongos son organismos protistas, heterótrofos, no fotosintéticos y multicelulares. Se suelen clasificar en función de su modo de reproducción, la cual, puede ser sexual o asexual, por escisión, gemación o por formación de esporas. Los hongos producen unas formaciones filamentosas llamadas hifas que forma una masa filamentosa llamada micelio.

La mayoría de los hongos son aerobios estrictos. Pueden crecer con muy poca humedad y toleran ambientes con pH relativamente bajos. El pH óptimo para la mayoría de las especies es 5-6, mientras que el intervalo de tolerancia se sitúa entre 6 y 9. Los hongos tienen una baja demanda de nitrógeno, sólo necesitan aproximadamente la mitad que las bacterias. En general, se puede decir que la presencia de hongos en los procesos biológicos es indicador de efluentes industriales ácidos. Los hongos más abundantes en las unidades de lodos activos son *Geotrichium candidum* y *Trichosporon sp.* (Cooke y Pipes, 1968; Cooke y Pipes, 1970).

Por último indicar que los hongos pueden participar en el *bulking*, originando flóculos muy filamentosos y no sedimentables, por lo que su presencia es indeseable (Coello M^a.D., 1998).






Protozoos

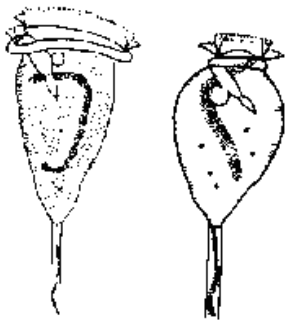


Los protozoos son organismos eucariotas unicelulares que, aunque no representa a un grupo natural, presentan una estructura celular típica. Su célula está dotada de uno o tres núcleos, según al grupo que pertenezcan. En el caso que tengan dos núcleos, el macronúcleo tiene importancia en procesos metabólicos, mientras que el micronúcleo interviene en los fenómenos de reproducción. La mayoría de los protozoos son heterótrofos aerobios, aunque algunos son anaerobios. Los protozoos suelen ser de mayor tamaño que las bacterias y se suelen alimentar de ellas.

Los protozoos son componentes comunes de los lodos activos, con una densidad de población de alrededor de 500.000 individuos por mililitro, lo cual representa entre el 5 y el 12% del peso seco del contenido del tanque de aireación (Hopwood y Downing, 1965; Pike y Curds, 1971). Los protozoos representan la mayor proporción de la biomasa total. Curds (1975) enumeró 228 especies de Protozoos de los cuales el 70% correspondía al grupo de los Ciliados. Los flagelados, tanto Phyto- como Zoomastigóforos se encuentran en pequeño número en los lodos activos.

Su función en los tratamientos biológicos es clarificar el efluente ya que se encargan de consumir bacterias las cuales son las causantes de la turbidez del mismo. También son empleados como bioindicadores del estado del proceso de depuración. La Tabla II.8 muestra los principales grupos observados en el fango activo y las relaciones bioindicadoras.

Tabla II.8. Principales grupos de protozoos presentes en el fango activo (Coello M^oD., 1998)

Grupo	Relaciones bioindicadoras	Esquema representativo
<i>Rizópodos o amebas</i>	Son masas protoplasmáticas hialinas desnudas o incluidas en una cáscara o teca; se desplazan emitiendo pseudópodos. Son formas resistentes a condiciones anaerobias y transitorias durante la puesta en marcha de las instalaciones. En un reactor funcionando normalmente, pueden ser indicativos de una tendencia de los lodos a degenerarse o de sedimentos anaerobios.	
<i>Zooflagelados</i>	Organismos muy móviles, animados por uno o varios flagelos muy finos y muy largos. Pueden persistir en un medio poco oxigenado. Son poco frecuentes en aguas domésticas, salvo si éstas contienen muchas grasas y proteínas. Constituyen, a veces, la única población desarrollada en los lodos adaptados a ciertas aguas industriales que contienen fenoles o productos de síntesis orgánica. Son las primeras especies desarrolladas que aparecen en lodos jóvenes.	
<i>Aspidisca</i>	Euciliado del orden de los <i>Spirotrichida</i> , familia de los <i>Aspidiscidae</i> . Pequeño ciliado, con aspecto de crustáceo, que se desplaza con bastante rapidez por la superficie de los flóculos gracias a sus cirros frontales y anales. Se encuentran muy difundidos en los lodos activos adultos formados en aguas de todo origen.	
<i>Euplotes</i>	Ciliado de forma oval. Aplanado dorsoventralmente y de paredes rígidas. Se diferencia de <i>Aspidisca</i> por su mayor tamaño, por la forma un poco más alargada y por el movimiento que es menos agitado, alternando periodos de pausa. Se alimenta de bacterias floculantes y es frecuente en los sistemas de fangos activados.	
<i>Epistylis</i>	Euciliado del orden de los <i>Peritrichica</i> , familia de los <i>Epystilidae</i> . Ciliado agrupado en forma de grumos densos. Característico de los lodos activos que están envejeciendo y relativamente bien oxigenados. Reemplaza con frecuencia a las vorticelas, cuando las aguas residuales urbanas contienen una proporción considerable de vertidos industriales diversos (fenoles, etc.)	

Grupo	Relaciones bioindicadoras	Esquema representativo
<i>Vorticella</i>	Euciliado del orden de los <i>Peritrichida</i> , familia de los <i>Vorticellidae</i> . Ciliado agrupado con un pedúnculo no ramificado. Son frecuentes dos especies: <i>V. Microstoma</i> (de boca pequeña), y <i>V. acrostoma</i> (de boca grande). Este predador, muy frecuente, es característico de fango adultos en perfecto estado, bien oxigenados, en plantas que funcionan a carga media o fuerte	
<i>Litonotus</i>	Euciliado del orden de los <i>Holotrichida</i> , familia de los <i>Amphileptidae</i> . Se trata de un ciliado nadador, que se arrastra sobre la superficie de los flóculos. Este género es muy frecuente en lodos que se encuentran en fase de una buena formación, antes de la aparición de ciliados agrupados, en instalaciones que funcionan en condiciones normales de carga. Exigen un buen grado de oxigenación	
<i>Paramecium</i>	Euciliado del orden de los <i>Holoreichida</i> , familia de los <i>Paramecidae</i> . Es un ciliado tipo, con una cavidad bucal marcada rodeada de un peristoma provisto de unos cilios esenciales; dos núcleos más o menos distintos y dos vacuolas contráctiles fijas. Este organismo libre nadador, es una forma bastante resistente que se encuentra en la parte superior de los lodos mal oxigenados, en el tratamiento de aguas residuales urbanas o de la industria alimentaria	

Rotíferos

Son organismos aerobios, heterótrofos y pluricelulares. Presentan en el extremo anterior una región ciliada o corona, la cual utilizan para capturar alimentos y para moverse. Suelen tener un tubo digestivo completo, con boca anterior, faringe muy diferenciada, provista de piezas móviles que actúan como mandíbulas.

Estos organismos se encuentran en la superficie de los flóculos. Son muy eficaces en la eliminación de bacterias dispersas y floculadas, así como de pequeñas partículas de materia

orgánica. Su presencia en un efluente indica un proceso aerobio de purificación biológica muy eficiente. No obstante, son bastante sensibles a los tóxicos y a las variaciones de carga.

Nematodos

Son organismos pluricelulares, vermiformes, recubiertos de una cutícula y que comprenden un sistema digestivo bien diferenciado, así como unos órganos genitales. La cavidad bucal va provista de un estilete prolongable que sirve para atrapar las presas importantes.

Estos organismos son característicos de lodos viejos, o en vías de mineralización. Se encuentran frecuentemente en lodos que sufren una digestión aerobia, así como en las películas espesas de los lechos bacterianos. Más resistentes que los rotíferos, son generalmente indicativos de condiciones límites en la vida aerobia.

Algas

Las algas son protistas unicelulares o multicelulares, autótrofos y fotosintéticos. Su importancia en los procesos de tratamiento biológico está en dos hechos. En lagunas de estabilización, la capacidad de las algas para generar oxígeno por fotosíntesis es vital para la ecología del medio ambiente acuático. Para que una laguna de oxidación aerobia o facultativa funcione adecuadamente, la presencia de algas es necesaria para suministrar el oxígeno a las bacterias heterótrofas aerobias. Las algas son, asimismo, importantes en la eliminación de nutrientes en los procesos de tratamiento.

Formación de flóculos

Al principio, los microorganismos suelen presentarse de forma libre en el medio. Sin embargo, conforme aumenta el tamaño de las poblaciones, los microorganismos se agrupan formando estructuras mixtas con la materia coloidal orgánica e inorgánica y la materia particulada de mayor tamaño, adoptando una matriz orgánica compacta llamada **flóculo**. Estos flóculos constituyen en sí el núcleo de la depuración.

Un flóculo está formado por dos componentes básicos: el biológico y el no biológico. El componente biológico es el más importante y está integrado por bacterias (formadoras de flóculos y filamentosas), protozoos y metazoos, de forma que el flóculo puede ser considerado un pequeño microcosmos con una población en condiciones de estado dinámico. El componente abiótico lo constituyen las partículas orgánicas e inorgánicas presentes en el agua

residual, así como los polímeros extracelulares (mayoritariamente carbohidratos) generados por los propios microorganismos.

La naturaleza del flóculo está determinada por dos niveles estructurales denominados micro y macroestructura (Jenkins D. *et al.*, 1993). La microestructura constituye la base de la formación del flóculo y está determinada por los procesos de agregación microbiana y de biofloculación. Este último fenómeno es el resultado de la interacción entre los microorganismos y los polímeros extracelulares generados por ellos mismos, que actúan como polielectrolitos. La macroestructura la forman los microorganismos filamentosos, que aportan la red o microesqueleto del interior del flóculo a la que se adhieren las bacterias.

Cuando sólo se dispone de microestructura (ausencia absoluto de bacterias filamentosas), los flóculos resultantes son esféricos y compactos, pequeños ($\leq 75 \mu\text{m}$) y muy débiles, que se rompen fácilmente en un medio turbulento. La sedimentabilidad de estos flóculos es deficiente, obteniéndose un efluente con una turbidez elevada (flóculos en forma de alfiler o *pinc-floc*). En cambio, la presencia de filamentos en el interior del flóculo (macroestructura) permite formar agregados de mayor tamaño, de forma más irregular y menos compactos, que pueden resistir mejor las turbulencias producidas por la agitación o la recirculación propia del reactor, consiguiéndose una buena sedimentación y, por lo tanto, un efluente con una baja turbidez.

No obstante, la presencia excesiva de filamentos puede ocasionar problemas en la decantación del fango. Cuando los organismos filamentosos crecen más allá de los límites del flóculo, se generan estructuras propicias para la interacción entre flóculos, lo que favorece el puente o *bridging* entre ellos y dificulta su decantación. Este fenómeno se conoce con el nombre de *bulking* filamentoso. Esto hace que el índice volumétrico de fangos sea muy elevado ($> 150 \text{ ml/gSTS}$) y el fango muy voluminoso y poco compacto, lo que propicia escapes incontrolados de fango del decantador y deteriora la calidad del efluente, así como la imposibilidad de controlar el tiempo medio de retención celular.

Un crecimiento equilibrado de bacterias filamentosas y de bacterias formadoras de flóculos permite obtener el llamado flóculo ideal, en el que los filamentos se desarrollan en el interior del flóculos, proporcionándole estructura y resistencia. Un fango activo con este tipo de flóculos tendrá un IVF entre 75-125 ml/gSTS y producirá un efluente de escasa turbidez y con escaso contenido en sólidos en suspensión. (Parody, 1997).

Los flóculos pasan por diferentes fases hasta alcanzar la madurez y, posteriormente, decaen cambiando su estructura y actividad durante el proceso. Conforme aumenta el tamaño de los flóculos, los procesos de difusión de nutrientes hacia el interior disminuyen, así como la expulsión de sustancias excretables. Si valoramos el entramado y el estado del flóculo, podemos realizar una estimación sobre la fase de formación en la que éste se encuentra. Mientras que los flóculos de mayor tamaño (3 mm) y los más ramificados son los que predominan en edades de fango de más de 15 días, para edades de 5 días, normalmente, aparecen medidas de 500-1500 μm . Si la puesta en marcha ha sido reciente, el tamaño del flóculo es pequeño (50-500 μm) (Garrido A. *et al.*, 1988). Podemos, por lo tanto, diferenciar a grandes rasgos entre:

- Fase de formación: el flóculo apenas está definido
- Fase de crecimiento: el tamaño medio oscila en torno a 60-90 μm
- Fase de desarrollo óptimo: tamaño medio de flóculo en torno a 1500 μm
- Fase de envejecimiento: flóculos de tamaño excesivo, mayores de 1500 μm .

Una estructura óptima de flóculo se presenta con un núcleo de materia orgánica condensada, donde se produce un ambiente anóxico y un exterior aerobio, con la consiguiente distribución espacio-temporal de los organismos implicados. Asociados a esta estructura, se encuentran los protozoos ciliados, fundamentalmente reptantes y sésiles, estableciendo cadenas tróficas más o menos complejas como la que se presenta en la Figura II.8.

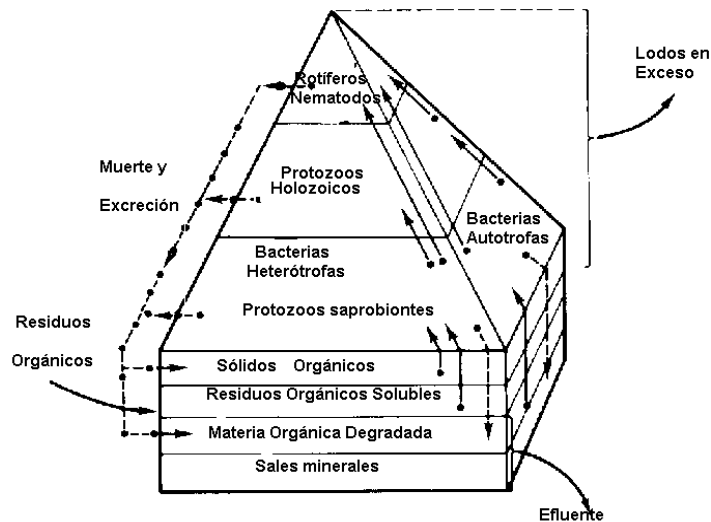


Figura II.8. Pirámide trófica del sistema de lodos activos. (Gray, 1989)

Sucesión y dinámica de poblaciones

Las aguas residuales introducen en el sistema de lodos activos diferentes especies. Unas encuentran el medio adecuado, persisten y se multiplican. Otras no, y bien mueren o no crecen.

En los sistemas de los lodos activos existe una dinámica de poblaciones en la que los organismos presentes están en competencia por el alimento y entre los que hay una serie de relaciones predador-presa y una dependencia entre poblaciones, de forma que la composición final de los microorganismos en el sistema dependerá, entre otros, de los siguientes factores:

- la velocidad de crecimiento de las especies,
- la disponibilidad de alimentos en competencia con otras especies,
- la predación de otras especies,
- las condiciones físicas y químicas de la planta (disponibilidad de oxígeno, pH, temperatura, agentes inhibidores, tóxicos, etc.), y
- la capacidad de adaptación de los microorganismos.

Los fangos activados son ecosistemas sujetos a una entrada continua de materia orgánica, por lo que el desarrollo normal de la sucesión ecológica no se lleva a cabo. La sucesión se mantiene en una etapa concreta de régimen estacionario, en la que el rendimiento de depuración sea máximo y exista un equilibrio entre el fango producido, purgado y recirculado.

Entre la puesta en marcha y la estabilización de la estación depuradora se producen sucesiones en las poblaciones de microorganismos. En la fase inicial dominan las bacterias dispersas y los protozoos que entran con el influente. Posteriormente, aumenta el número de bacterias y aparecen los ciliados nadadores libres. Poco a poco se van formando los flóculos y disminuye el número de bacterias libres y de protozoos flagelados. Se desarrollan los ciliados pedunculados y reptantes con estructuras bucales eficaces para la captura de alimento, estos acaban por desplazar a los ciliados nadadores. Más tarde, aparecen los metazoos por encontrarse en el final de la cadena. El grado de madurez de un fango se puede apreciar observando la aparición o desaparición de los distintos grupos de bacterias, protozoos y macroinvertebrados presentes en él (Moro P. y Fernández-Leborans G., 1988). La Figura II.9 presenta la secuencia típica de aparición de los microorganismos en los fangos activos.

No obstante, las sucesiones de microorganismos que tienen lugar en el sistema de fangos activados no solo ocurren como resultado de relaciones tróficas, sino que pueden ser debidas también a alteraciones ocasionales pero significativas del proceso de depuración, provocadas a veces para mejorar el rendimiento como es la actuación sobre el tiempo de retención celular.

En particular, los ciliados y rotíferos son los primeros que se ven afectados por los tóxicos y así ellos nos sirven como bioindicadores frente a los productos tóxicos o a condiciones adversas en los procesos de fangos activados.

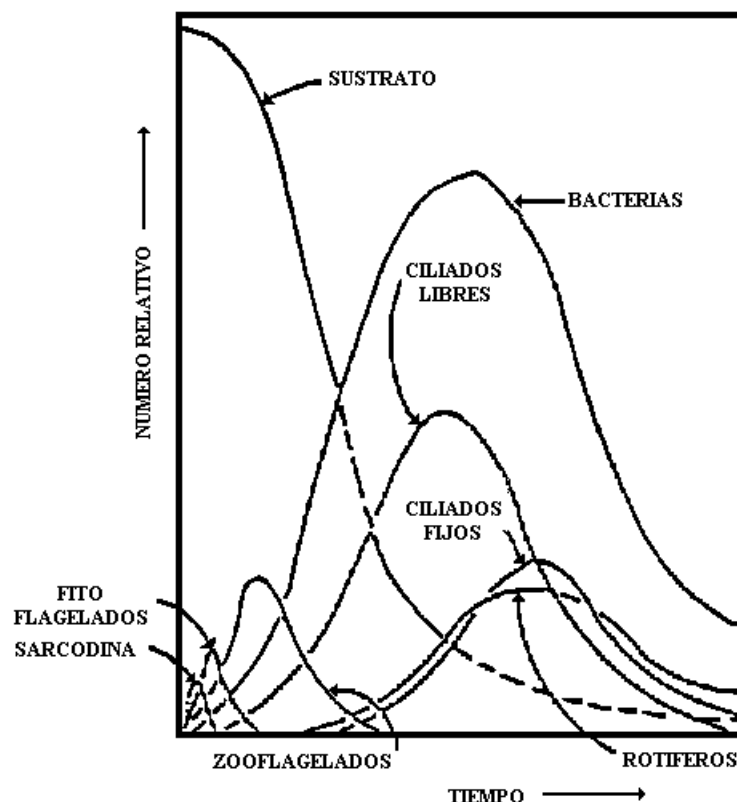


Figura II.9. Secuencia de aparición de los microorganismos en el fango activo

El primer signo de toxicidad o estrés es por lo general, la disminución o cese de movimiento en los ciliados. Luego aumenta el número de flagelados y pequeños ciliados móviles. Los flóculos se rompen con lo cual hay un aumento de bacterias dispersas, lo que implica un aumento de la turbidez. Estas bacterias dispersas son utilizadas por los flagelados y pequeños ciliados como fuente de alimento. Finalmente, en algunos casos, estos protozoos muertos pueden causar espumas en los fangos activados (espumas blancas que contienen protozoos y fragmentos de protozoos). Los tóxicos capaces de causar todo esto son principalmente metales pesados y cianuros, también una disminución del oxígeno disuelto, un rango de pH distinto al neutro 6-8 y un aumento de la temperatura.

Por todo lo expuesto anteriormente, los microorganismos presentes en el fango activo son empleados comúnmente como bioindicadores del proceso depurativo. De hecho, el buen funcionamiento de un sistema de depuración puede definirse por la presencia o ausencia de determinados tipos de organismos que intervienen (Vilaseca M.M., 2001). Por lo tanto, para un buen control de las estaciones depuradoras, el estudio microscópico de los fangos activos supone una gran ayuda, ya que aporta una visión inmediata de las condiciones imperantes. El conocimiento de la estructura en especies de la microfauna puede resultar un instrumento diagnóstico que añadir al conjunto de eficiencia de la depuración biológica (Madoni P. y Ghetti P.F., 1981; Antonietti R. *et al.* 1982.).

II.2.4. Introducción al metabolismo bacteriano

Los procesos biológicos de depuración de las aguas residuales, entre los que se encuentra el sistema de lodos activos, se basan en el metabolismo de los microorganismos presentes en los reactores. Asimismo, las rutas metabólicas van a jugar un papel primordial en algunas de las estrategias para la reducción de los fangos en exceso que han sido estudiadas en este trabajo de investigación. Por eso, en este apartado, se hace un repaso del metabolismo celular.

Los microorganismos para reproducirse y funcionar de manera correcta necesitan principalmente de una fuente de **carbono** para la síntesis de material celular nuevo y una fuente de **energía** para el desarrollo de sus funciones vitales. Además es necesario que en el medio existan elementos inorgánicos, (nutrientes) tales como nitrógeno, fósforo, azufre, potasio, calcio y magnesio, así como nutrientes orgánicos (factores de crecimiento) que también pueden ser necesarios para la síntesis celular.

La materia orgánica y el dióxido de carbono son dos de las principales fuentes de carbono celular para los microorganismos. Los organismos que utilizan el carbono orgánico para la formación de tejido celular se denominan *heterótrofos*. Los organismos que obtienen carbono celular a partir del dióxido de carbono reciben el nombre de organismos *autótrofos*.

Para que se lleven a cabo las reacciones bioquímicas, los seres vivos necesitan, además de las enzimas, un aporte de energía para la síntesis celular que bien se obtiene de la luz o bien de las reacciones químicas de oxidación. Los organismos capaces de utilizar la luz como fuente de energía reciben el nombre de *fotóforos*. Los organismos que obtienen la energía a partir de las reacciones químicas se conocen con el nombre de organismos *quimiótrofos*. En la Tabla II.9 aparece la clasificación de los organismos según sea su fuente de energía y carbono celular.

Tabla II.9. Clasificación general de los microorganismos atendiendo a sus fuentes de energía y de carbono

Clasificación	Fuente de Carbono	Fuente de energía
Autótrofos :		
Fotoautótrofos	CO ₂	Luz
Quimioautótrofos	CO ₂	Reacción de oxidación-reducción inorgánica
Heterótrofos :		
Fotoheterótrofos	Carbono orgánico	Luz
Quimioheterótrofos	Carbono orgánico	Reacción de oxidación-reducción

Para que un sistema biológico funcione correctamente es necesario, además, que se hallen presentes cantidades adecuadas de nutrientes, siendo los principales el nitrógeno y el fósforo. Basándose en una composición media del tejido celular representable como $C_5H_7NO_2$, se necesitará del orden de un 12,4% de nitrógeno (en peso). Normalmente se suele suponer que las necesidades de fósforo son una quinta parte de ese valor. Se ha podido comprobar que la distribución porcentual de nitrógeno y fósforo en tejido celular varía con la edad del tejido celular y con las condiciones ambientales, pudiéndose concluir que estos son valores típicos, y no cantidades fijas.

Los factores de crecimiento son sustancias orgánicas producidas por los propios microorganismos, las cuales son de gran importancia para el desarrollo de algunas especies bacterianas, ya que aún estando en pequeñas proporciones (0,3-3 mgC/l) pueden favorecer el desarrollo de las mismas actuando como vitaminas o inhibir su multiplicación y producir la muerte (antibióticos y venenos). Los factores de crecimiento tienen la propiedad de ser altamente específicos desarrollando (al actuar como vitamina) o inhibiendo (al actuar como venenos) el crecimiento de unas especies u otras incluso pueden resultar tóxicos para las mismas especies que las producen.

Dentro de los organismos quimioheterótrofos, se puede realizar una nueva clasificación atendiendo a las características de su metabolismo y a sus necesidades de oxígeno. Los organismos que respiran son aquellos que generan energía a través del transporte de electrones mediante enzimas desde un donante de electrones hasta un aceptor de electrones exterior. En cambio, la fermentación es un proceso de producción de energía menos eficiente que la respiración; por lo tanto, los organismos heterótrofos estrictamente fermentativos se caracterizan por tasas de crecimiento y de producción menores que las de los organismos heterótrofos que respiran. En la tabla II.10 se exponen los posibles aceptores de electrones.

Tabla II.10. Aceptores de electrones en las reacciones bacterianas normalmente presentes en el agua residual

Ambiente	Aceptor de electrones	Proceso
Aerobio	Oxígeno, O_2	Metabolismo aerobio
Anaerobio	Nitrato, NO_3	Desnitrificación
	Sulfato, SO_4	Reducción del sulfato
	Dióxido de carbono, CO_2	Metanogénesis

Las células, por tanto, intercambian continuamente materia y energía con el entorno, introducen materia y la transforman con el objetivo de construir, renovar sus estructuras y conseguir la energía necesaria para sus funciones. Estas transformaciones que tienen lugar en la célula ocurren por medio de un conjunto de reacciones químicas, catalizadas por enzimas, y se denominan genéricamente **metabolismo**.

Los objetivos del metabolismo son:

1. Obtención de energía útil (ATP) para la célula, a partir de la luz, de las sustancias inorgánicas (quimiosíntesis) o moléculas orgánicas.
2. Convertir nutrientes exógenos en precursores de macromoléculas.
3. Construcción de macromoléculas propias a partir de dichos precursores.
4. Formación y degradación de las macromoléculas de biomoléculas, como hormonas, neurotransmisores, proteínas y lípidos de membrana, etc.

Hay dos tipos de reacciones en el metabolismo:

- Reacciones catabólicas o CATABOLISMO, en la que se transforman moléculas orgánicas complejas (polisacáridos, triglicéridos, proteínas, etc.) en otras más sencillas, orgánicas o inorgánicas, (pirúvico, láctico, amoníaco, CO₂, etc.). En estas reacciones se libera la energía contenida en los enlaces de estas macromoléculas, y es almacenada en los enlaces fosfato de alta energía del ATP. Es decir se pasa de moléculas con alto contenido energético (muy reducidas) a otras con escaso contenido (muy oxidadas).
- Reacciones anabólicas o ANABOLISMO, es la síntesis de moléculas orgánicas complejas a partir de otras más sencillas, es decir, se crean nuevos enlaces, para ello es necesario un aporte de energía, el ATP. Este ATP procede del catabolismo, de la fotosíntesis o de las quimiosíntesis.

55

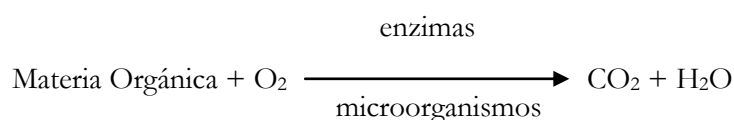
La siguiente ecuación resume el metabolismo de los microorganismos presentes en un sistema aerobio, como el sistema de fangos activos, que ha sido objeto de estudio en la presente tesis doctoral.

Mat. orgánica+Microorganismos+Nutrientes+O₂ → Productos finales+Nuevos microorg.+Energía

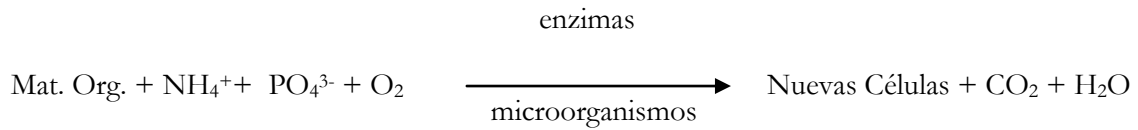
En los procesos de oxidación biológica aerobia las reacciones de síntesis (anabolismo) y oxidación (catabolismo) que tienen lugar son las siguientes:

1.A) Oxidación de la materia orgánica para producir CO₂ y H₂O (respiración celular).
CATABOLISMO

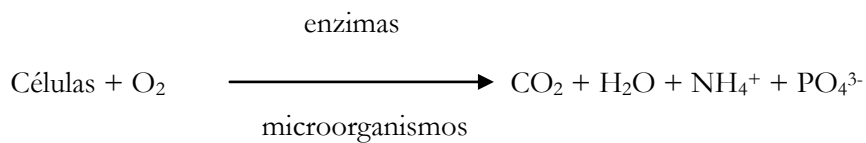
Primero se consumen los compuestos carbonados exentos de nitrógeno, para, a continuación, consumir los compuestos que sí lo poseen (ruta catabólica).



1.B) Síntesis celular o ANABOLISMO. A partir de la materia orgánica y utilizando amonio y fosfato como fuentes de nitrógeno y fósforo se generan nuevo material celular (ruta anabólica).



2) Oxidación de la propia materia orgánica celular, para su utilización en procesos de asimilación.



Este proceso se conoce con el nombre de “respiración endógena”, en el que también las células muertas sirven de alimentos a los otros microorganismos. Esta reacción tiene lugar cuando la materia orgánica disponible es limitante, de tal forma que los microorganismos del sistema utilizan su propio protoplasma para obtener energía para su mantenimiento.

CATABOLISMO

El catabolismo celular ocurre en tres etapas diferenciadas (Ingraham, J. L. y Ingraham, C. A., 1998):

- FASE I: Las grandes macromoléculas se degradan en sus monómeros con enzimas específicos. Esta fase ocurre fuera de la célula.
- FASE II: Los monómeros son degradados por procesos específicos hasta Acetil-CoA. Se produce algo de ATP. Glucólisis (degradación de glúcidos), β -oxidación (degradación de lípidos), transaminación (degradación de aminoácidos).
- FASE III: El Acetil-CoA es oxidado hasta CO_2 y H_2O , originando gran cantidad de NADH (poder reductor) y ATP. Ocurre en la mitocondria, en células *eucariotas*, y en la membrana citoplasmática, en organismos *procariotas*. También se genera ATP en la fosforilación oxidativa.

Las rutas de degradación de la materia orgánicas son rutas convergentes. Los procesos catabólicos se pueden iniciar a partir de varios sustratos orgánicos, especialmente glúcidos, lípidos y proteínas. En cualquier caso, al final, las diferentes rutas metabólicas de la respiración

celular confluyen en el **ciclo de Krebs**, y los electrones liberados en el proceso pasan a la **cadena respiratoria** para formar ATP por **fosforilación oxidativa**.

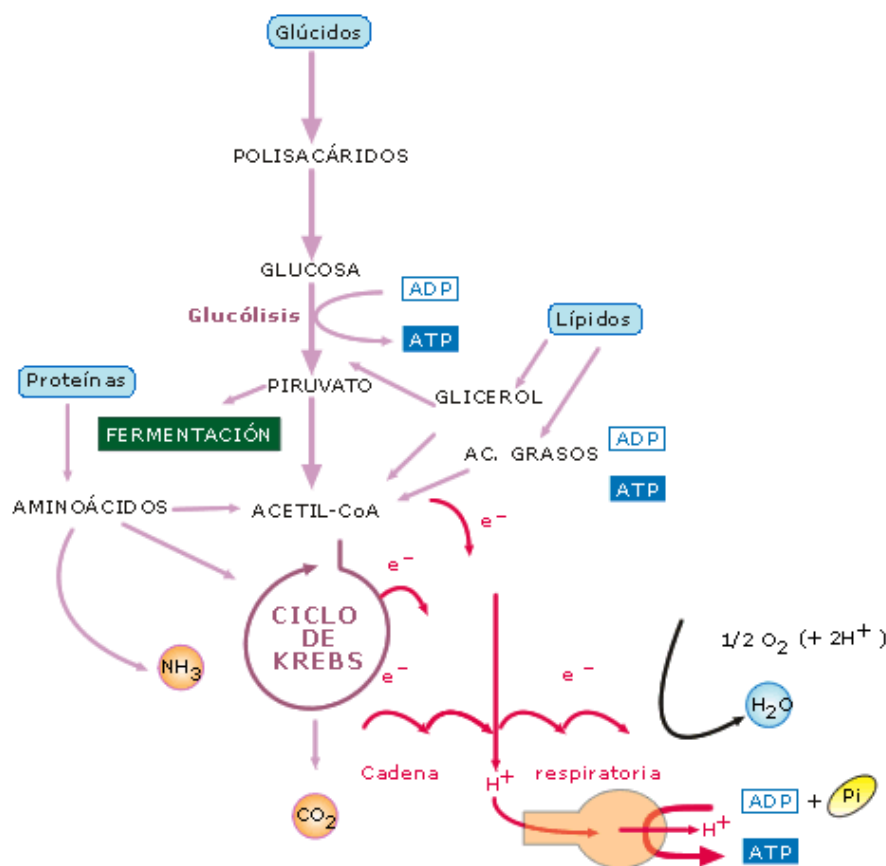


Figura II.10. Esquema del catabolismo

Casi todos los compuestos orgánicos (azúcares y grasas especialmente) se descomponen hasta formar acetil-CoA: un grupo acetilo de dos carbonos, unidos al coenzima A.

El acetil-CoA se incorpora a una secuencia cíclica de reacciones químicas que se conocen con el nombre de ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico (Figura II.11). Este ciclo tiene lugar en la matriz mitocondrial (organismos *encariotas*) o en las membranas citoplasmáticas (organismos *procariotas*) y consiste en una secuencia de ocho reacciones consecutivas.

En el conjunto de esas reacciones se liberan 2 moléculas de CO_2 , que se puede considerar que proceden del grupo acetilo del acetil-CoA, con lo cual se consigue una oxidación completa de la materia orgánica. El CO_2 será, por tanto, el producto residual último de la respiración aerobia.

Asimismo, los electrones más los protones (hidrógeno), que pierde el grupo acetilo al oxidarse, van a parar, en cuatro fases, a transportadores de electrones, formándose 3 moléculas de $\text{NADH} + \text{H}^+$ y una molécula de FADH_2 . El poder reductor de estas moléculas será transferido luego a través de la cadena respiratoria.

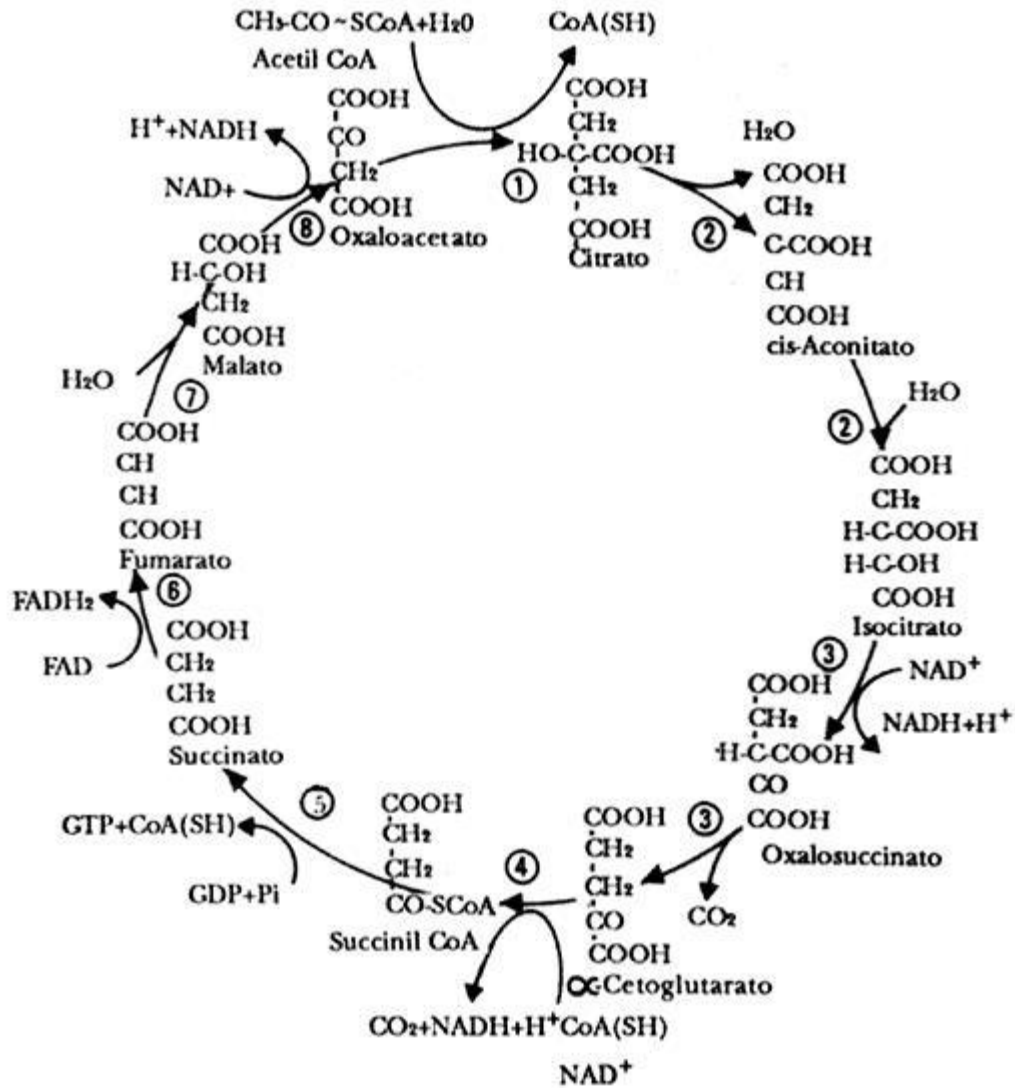


Figura II.11. Reacciones que conforman el ciclo de Krebs

En un paso del ciclo tiene lugar una fosforilación a nivel de sustrato que origina una molécula de GTP (equivalente desde el punto de vista energético a un ATP).

Los transportadores de electrones NADH y FADH_2 , originados fundamentalmente en el ciclo de Krebs, pero también en otros procesos catabólicos, albergan el poder reductor que les confieren los electrones “energéticos” que transportan. Esa energía es liberada, poco a poco, a lo largo de la cadena respiratoria que tiene lugar en las crestas y en la membrana mitocondrial interna (en el caso de organismos *eucariotas*). En dicha membrana existen tres complejos enzimáticos transportadores de electrones:

- El complejo NADH deshidrogenasa
- El complejo citocromo b-c₁
- El complejo citocromo oxidasa.

Tanto el NADH como el FADH₂ ceden los electrones “energéticos” a la cadena formada por esos tres transportadores y, a medida que pasan de un transportador a otro, los electrones van liberando energía. Esa energía, según la teoría quimiosmótica de Mitchell (1961), permite el bombeo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranoso de la mitocondria. De este modo se genera un gradiente electroquímico de protones, con una concentración de protones mayor en el espacio intermembrana que en la matriz.

La fuerza protón-motriz generada, impulsa los protones a través de las ATP sintetasas presentes en la membrana mitocondrial interna, permitiendo la unión del ADP a un grupo fosfato, con la consiguiente formación de ATP. El conjunto de estos procesos, que culminan con la formación de ATP, constituyen la **fosforilación oxidativa**.

Con fines prácticos, aunque no es del todo exacto, se considera que una molécula de NADH permite la formación de 3 moléculas de ATP, mientras que una de FADH₂ sólo aportará 2 ATP.

Tanto los electrones como los protones, que han sido impulsados a lo largo de la cadena respiratoria, deben unirse a un aceptor final. En la **respiración aerobia** el aceptor último de electrones (y protones) es el O₂, que al unirse al H₂, forma H₂O como producto final.

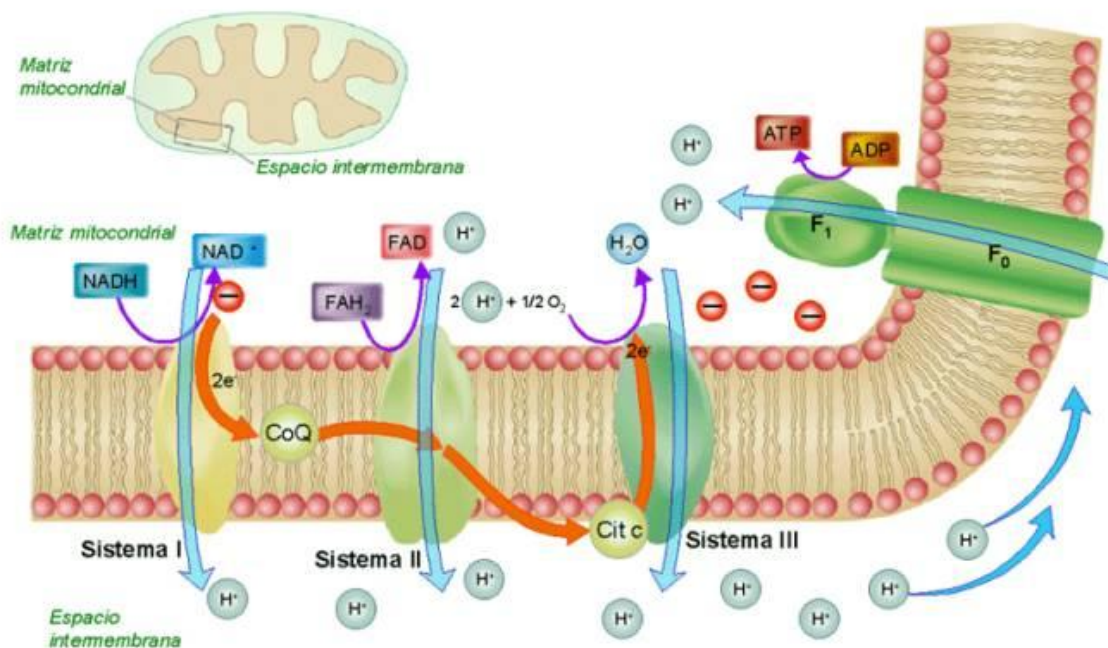


Figura II.12. Transferencia de electrones y fosforilación oxidativa en la cadena respiratoria mitocondrial

En función del tipo de macromolécula de partida (glúcido, lípido o proteína) la cantidad de energía obtenida a través de las rutas catabólicas será mayor o menor. A modo de ejemplo se expone a continuación el rendimiento energético del catabolismo aerobio de la glucosa.

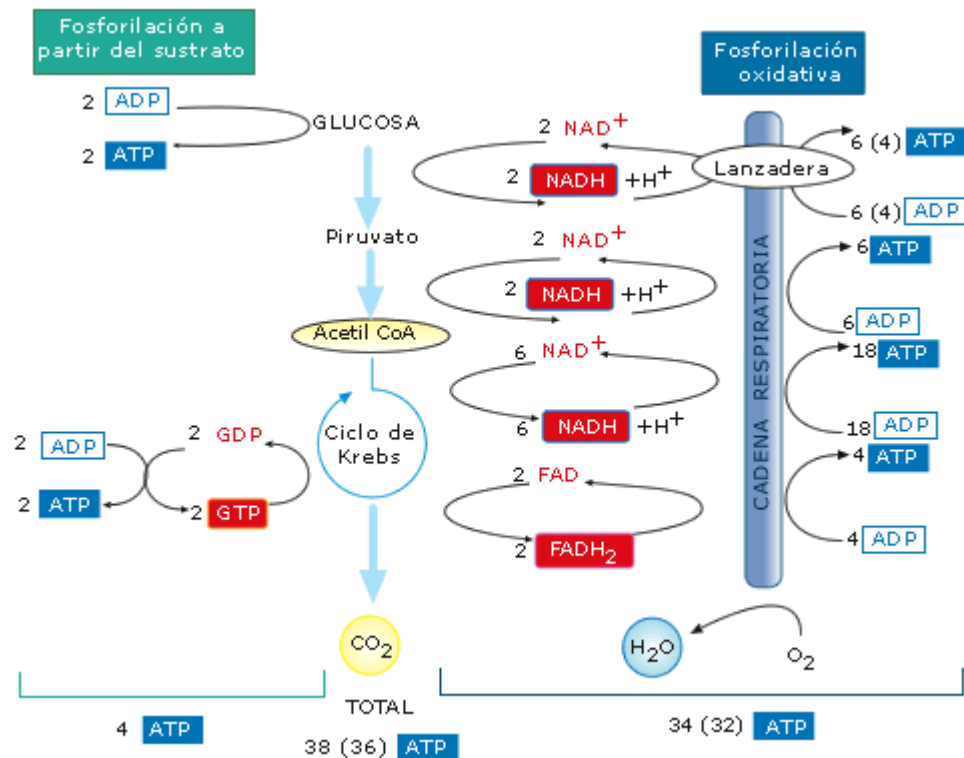


Figura II.13. Balance energético global de la respiración aerobia de una molécula de glucosa

ANABOLISMO

Es el proceso metabólico de formación de moléculas complejas a partir de moléculas sencillas o precursores. Los precursores pueden proceder del catabolismo de las sustancias de reserva (en células heterótrofas y autótrofas), de la digestión de los alimentos orgánicos (células heterótrofas), y de la fotosíntesis o de la quimiosíntesis (células autótrofas). Primero se distingue una fase de biosíntesis de monómeros y posteriormente una fase de biosíntesis de polímeros a partir de estos monómeros. A diferencia del catabolismo, que es un proceso de oxidación, el anabolismo es un proceso de reducción.

Anabolismo de los glúcidos:

- Obtención de glucosa:

En las células animales, la glucosa se puede obtener de la dieta mediante la digestión. En las células autótrofas se puede obtener a partir de un proceso que se origina en el ciclo de Calvin.

Sin embargo, en ambas células se puede obtener glucosa a partir de ciertas moléculas no glucídicas, resultantes del catabolismo, mediante un proceso denominado gluconeogénesis.

En las células animales, la **gluconeogénesis** se inicia a partir de sustancias como el ácido pirúvico o los aminoácidos, y en las células vegetales y microorganismos, también se puede obtener de los ácidos grasos (gracias al ciclo del oxalacetato que se realiza en los glioxisomas). La reacción global se representa mediante la siguiente ecuación:



Anabolismo de los nucleótidos

Los nucleótidos se forman a partir de los productos de su hidrólisis: pentosas, ácido fosfórico y bases nitrogenadas.

- Síntesis de nucleótidos con bases púricas: se inicia con una 5-fosfato-ribosa, sobre cuyo carbono I se va construyendo el doble anillo púrico mediante una compleja secuencia enzimática en las que interviene la glutamina, el ácido aspártico y la glicina.
- Síntesis de nucleótidos con bases pirimidínica: primero se forma el anillo pirimidínico a partir del ácido aspártico y posteriormente se une a una fosforribosa.

Anabolismo de los aminoácidos

Cada aminoácido posee su propia vía de obtención, que además puede variar según el tipo de célula que lo sintetiza. Las plantas son capaces de sintetizar los veinte aminoácidos. Sin embargo, muchos animales no pueden sintetizar diez de ellos, y los toman de la dieta, por lo que se denominan aminoácidos esenciales. Los otros diez se denominan aminoácidos no esenciales.

Anabolismo de los lípidos

Los lípidos más importantes con función de reserva son los triacilglicéridos. Su biosíntesis requiere primero la obtención por separado de sus dos componentes: los ácidos grasos y la glicerina.

- Obtención de los ácidos grasos

La principal fuente de los ácidos grasos en los animales es la grasa de los alimentos. La segunda fuente es la biosíntesis de los ácidos grasos, la cual se produce en el citosol, a partir de acetil-CoA, que proviene de la mitocondria del catabolismo de glúcidos, ácidos grasos (β oxidación) y aminoácidos. El primer acetil-CoA sirve de cebador. Los siguientes carbonos se unirán a la cadena en forma de malonil-CoA, molécula de 3C. La unión del malonil-CoA a un acetil-CoA origina una molécula de 4C; desprendiéndose un CO_2 . Se consumen dos NADPH para realizar las reacciones de hidrogenación y se origina un ácido graso activado (acilo) de 4C. Todo este proceso está catalizado por un conjunto de enzimas denominado complejo ácido graso

acetil-CoA (SAG). La unión repetida de moléculas de malonil-CoA permite que se añadan dos carbonos en cada ocasión, formándose una larga cadena con número par de carbonos.

- Obtención de la glicerina

Se obtiene, tanto de la glicerina que se produce por hidrólisis de las grasas, como a partir de la dihidroxiacetona-3P que se forma en la glucólisis. Después se transforma en glicerol-3P, que es la forma activada para unirse a los ácidos grasos.

- Formación de triacilglicéridos

Las moléculas de ácido graso se van uniendo al glicerol-3P mediante un enlace tipo éster, formando primero un monoacilglicérido, después un diacilglicérido y, por último, un triacilglicérido, liberando el grupo fosfato. Esto tiene lugar en las células hepáticas y en las células del tejido adiposo.

El catabolismo y anabolismo son simultáneos y son interdependientes, pero no son exactamente las mismas reacciones en sentido contrario, debido a varios motivos:

- Muchas reacciones catabólicas son irreversibles, es decir, no hay posibilidad de que ocurran en sentido contrario.
- Las rutas catabólicas y anabólicas pueden localizarse en distintos compartimentos
- La regulación enzimática es distinta en casi todos los procesos.

II.2.5. Breve introducción a la cinética del crecimiento microbiano

Como se ha comprobado en el apartado anterior, los microorganismos presentes en los sistemas biológicos de depuración emplean los contaminantes orgánicos presentes en las aguas residuales como fuente de carbono y energía para el desarrollo y mantenimiento de sus funciones vitales. En los procesos de oxidación biológica se ha comprobado que dichos contaminantes son transformados en productos finales y nuevo material celular. Por tanto, durante el proceso de depuración se generan nuevos microorganismos que pasan a formar parte de los lodos activos. Parte de estos microorganismos son mantenidos en el sistema mientras que otra parte son purgados del mismo, constituyendo los denominados fangos en exceso. La producción de estos lodos residuales, por tanto, está íntimamente relacionada con el crecimiento de los fangos activos.

El crecimiento microbiano se define como el aumento en el número de células microbianas de una población; también puede medirse como un aumento de la masa celular. La **velocidad de crecimiento** es el cambio en el número de células o en la masa celular por unidad de tiempo. Durante el ciclo de división celular todos los componentes estructurales de las células se

duplican. El intervalo para la formación de dos células a partir de una, supone una generación, y el tiempo transcurrido para que esto ocurra se llama **tiempo de generación**. Por tanto, el tiempo de generación es el requerido para que una población se duplique bajo condiciones óptimas de crecimiento. Los tiempos de generación varían extraordinariamente de unos microorganismos a otros (de diez minutos a 3 horas en bacterias). En el caso de *E. coli*, el tiempo medio de generación es de 20 minutos.

La Figura II.14 muestra la forma general en que se produce el crecimiento de las bacterias en un cultivo discontinuo. Inicialmente se inocula un pequeño número de organismos en un volumen determinado de un medio de cultivo y se registra el número de organismos viables en función del tiempo.

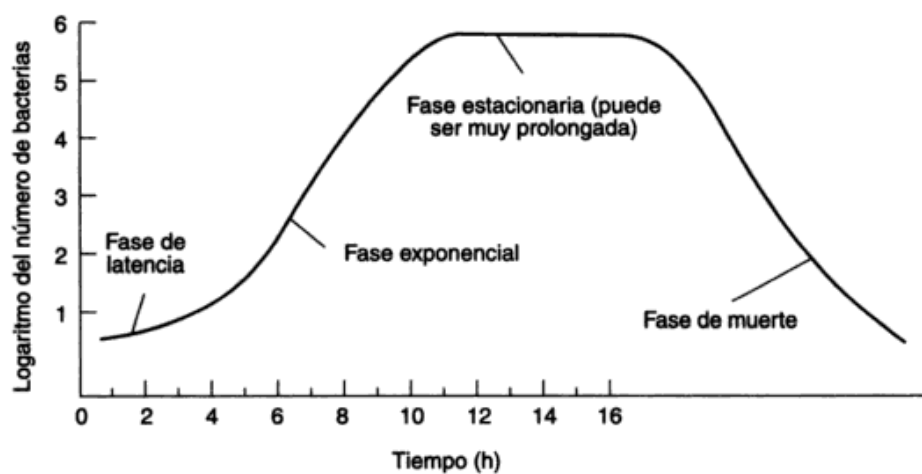


Figura II.14. Curva típica de crecimiento bacteriano (Glynn Henry J. y Heinke, G.W, 1999)

El modelo de crecimiento consta de cuatro fases:

- *Fase de latencia o retardo*: cuando se inocula una población microbiana en un medio fresco, por lo general, el crecimiento no comienza inmediatamente, sino tras un periodo de tiempo que constituye la fase de latencia que puede ser breve o larga dependiendo de la procedencia del cultivo y de las condiciones de crecimiento. Si un cultivo exponencial se inocula en el mismo medio y en las mismas condiciones de cultivo no se observa un retraso y el crecimiento exponencial se inicia inmediatamente. Sin embargo, si el inóculo se toma de un cultivo en fase estacionaria y se inocula en el mismo medio fresco considerado anteriormente, se observa normalmente un retraso, aunque todas las células del inóculo sean viables, es decir, sean capaces de reproducirse. Esto se debe, con frecuencia, a que las células carecen de varios componentes esenciales para dividirse y se requiere tiempo para su síntesis.

Esta fase aparece también en otros casos en los que las células del inóculo han sido dañadas parcialmente con calor u otro agente agresor, ya que, antes de comenzar el crecimiento exponencial, se precisa tiempo para reparar los daños. Asimismo, cuando se transfiere una población de un medio rico a uno pobre, aparece esta fase, durante la

cual se sintetizarán nuevos enzimas que degradarán los compuestos disponibles en el nuevo medio.

- *Fase de crecimiento exponencial:* esta fase deriva del hecho de que cada célula se divide para formar dos, cada una de las cuales va a formar otras dos y así sucesivamente. Las poblaciones de microorganismos que crecen de manera exponencial, se dice que se encuentran en la fase exponencial o logarítmica de crecimiento, ya que en ella la masa bacteriana aumenta exponencialmente con el tiempo, lo que significa que el logaritmo de la masa aumenta linealmente con el tiempo.

En general, las células en crecimiento exponencial están en el estado fisiológico más sano y, por ello, las células tomadas en el punto medio del crecimiento exponencial son, a menudo, las más indicadas en estudios fisiológicos y estructurales.

Durante esta fase las bacterias se reproducen a la velocidad correspondiente a su tiempo de reproducción y a su capacidad de asimilar el sustrato.

- *Fase estacionaria:* se puede calcular que una sola bacteria con un tiempo de generación de 20 minutos produciría, en tan sólo 48 horas de crecimiento exponencial continuado, una población que pesaría 4.000 veces la masa de la Tierra (la masa de una sola bacteria es alrededor de 10^{-12} gramos). Si embargo, esto no ocurre: los cultivos que crecen de forma exponencial acaban frenando su crecimiento, que finalmente cesa del todo. Esto es debido a varias razones: (i) un nutriente esencial del medio, al ser consumido, comienza a escasear y, finalmente, se convierte en un factor limitante del crecimiento; (ii) la acumulación de una o varias sustancias inhibidoras, frecuentemente ácidos orgánicos o alcoholes, producidos durante el metabolismo celular. Una vez que este crecimiento se detiene, se dice que el cultivo ha entrado en fase estacionaria, en la que no hay aumento ni descenso neto en el número de células. Aunque en esta fase no suele haber crecimiento, muchas funciones celulares continúan, como el metabolismo energético y algunos procesos biosintéticos. En algunos casos puede producirse un crecimiento lento. No obstante, aunque algunas células de la población crezcan, otras mueren. Ambos procesos, por tanto, se equilibran y no se detecta aumento ni disminución en el número de células. A este tipo de crecimiento se le denomina **crecimiento críptico**.
- *Fase de muerte:* si la incubación continúa después de que la población haya alcanzado la fase estacionaria, las células pueden continuar vivas y metabólicamente activas, pero también pueden morir. Si ocurre esto último, se dice que la población está en fase de muerte. En algunos casos, la muerte se acompaña de la lisis celular real. Esta fase es también exponencial, pero en la mayoría de los casos, es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial. La tasa de mortalidad suele ser función de la población viable y de las características ambientales.

La duración de cada una de estas fases es función del tipo de microorganismo presente en el cultivo y de la composición del medio.

La descripción matemática de estas cuatro fases es sumamente compleja, por lo que en esta memoria sólo se contempla la fase exponencial y la estacionaria.

Tanto en los sistemas de cultivo de alimentación continua como en los de alimentación discontinua, la tasa de crecimiento de las células bacterianas se puede definir mediante la siguiente expresión:

$$r = \mu X \quad [1]$$

donde :

r = tasa de crecimiento bacteriano, masa/volumen unitario·tiempo.

μ = Tasa de crecimiento específico, tiempo⁻¹.

X = Concentración de microorganismos, masa/volumen unitario.

La tasa de crecimiento específico μ varía durante el cultivo, siendo un valor constante y máximo en la fase exponencial (μ_m) y nulo en la estacionaria. En cultivos de alimentación discontinua, si uno de los requisitos esenciales para el crecimiento (sustrato o nutrientes) está presente en cantidades limitadas, será el primero en agotarse y se detendrá el crecimiento. En un cultivo continuo, este hecho tendrá el efecto de limitar el crecimiento. Experimentalmente, se ha podido determinar que el efecto de disponer cantidades limitadas de nutrientes a menudo, se puede definir adecuadamente mediante la siguiente expresión desarrollada por Monod.

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad [2]$$

donde :

μ = tasa de crecimiento específico, tiempo⁻¹.

μ_m = Tasa máxima de crecimiento específico, tiempo⁻¹.

S = Concentración de sustrato que limita el crecimiento, masa/unidad de volumen.

K_s = Mitad de la constante de velocidad. Concentración de sustrato en la que se alcanza la mitad de la tasa máxima decrecimiento, masa/unidad de volumen.

La constante de saturación, K_S , da una idea de la afinidad que tiene el microorganismo por el sustrato en cuestión. A menor K_S mayor afinidad. Normalmente K_S tiene valores muy pequeños (10^{-2} - 10^{-3} g/l) por lo que concentraciones relativamente pequeñas de S son suficientes para hacer que:

$$\mu = \mu_m \quad [3]$$

Reemplazando la ecuación [2] en [1] queda:

$$r_x = \mu_m \frac{S}{K_S + S} \cdot x \quad [4]$$

Al principio del cultivo todos los nutrientes estarán en exceso, y en particular el sustrato limitante también, por lo que la expresión [4] se reduce a (fase exponencial)

$$r_x = \mu_m x ; \text{ o bien: } \frac{dx}{dt} = \mu_m \cdot x \quad [5]$$

La ecuación [5] es fácilmente integrable y si se establece $t = 0$; $x = x_0$ (concentración inicial de microorganismos) tenemos que:

$$\ln x = \ln x_0 + \mu_m t \quad [6]$$

o bien

$$x = x_0 e^{\mu_m t} \quad [7]$$

Por tanto en la fase exponencial la concentración de biomasa aumenta exponencialmente, y también lo hace r_x ya que reemplazando [7] en [5] queda:

$$r_x = \mu_m x_0 e^{\mu_m t}$$

A partir de la ecuación [6] se puede calcular el tiempo de generación de los microorganismos (período de tiempo en que la biomasa se duplica) haciendo $x = 2 x_0$, de forma que $t_g = \frac{\ln 2}{\mu_m}$

A medida que transcurre el tiempo de cultivo, S va disminuyendo (y por tanto r_x) hasta que finalmente $S = 0$ (fase estacionaria), y $r_x = 0$ [8]

lo que implica:

$$x = \text{cte} = x_f \quad [9]$$

siendo x_f = concentración final de biomasa.

Si se representa el $\ln x$ frente al tiempo se obtiene un gráfico como el de la Figura II.15.

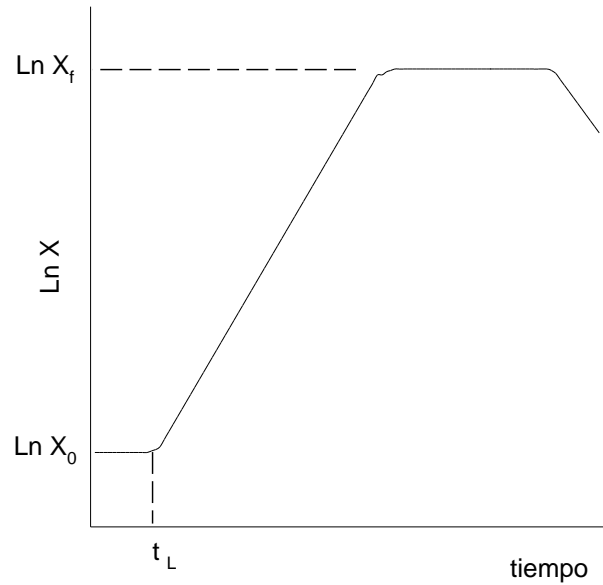


Figura II.15. Representación del $\ln X$ frente al tiempo

De la fase exponencial se calcula μ_m mediante la ecuación [6]. La duración de la fase de latencia, t_L , se puede calcular del gráfico, o bien haciendo una corrección en la ecuación [6]:

$$\ln x = \ln x_0 + \mu_m (t - t_L)$$

Si tomamos un valor cualquiera de x que corresponda a la fase exponencial, x_e , podemos calcular t_L .

$$t_L = t_e - \frac{1}{\mu_m} \ln \frac{x_e}{x_0}$$

Crecimiento bacteriano y consumo de sustrato

La concentración de sustrato soluble, S , del agua residual decrece con el tiempo conforme dicha materia orgánica se oxida hasta que, finalmente, se alcanza un valor constante correspondiente a la cantidad de materia no biodegradable. Al mismo tiempo los microorganismos emplean dicha materia orgánica en la síntesis de nuevo material celular. Gráficamente,

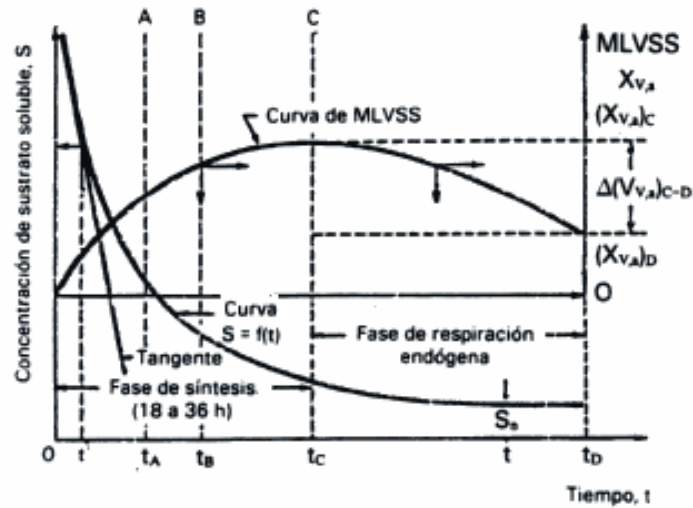


Figura II.16. Curvas típicas de la concentración de sustrato soluble y de los SVSLM en un reactor discontinuo (Ramalho, 1996)

La velocidad dX/dt a la cual se producen los sólidos biológicos es proporcional a la velocidad de utilización del sustrato dS/dt . La proporcionalidad entre ambas velocidades viene determinada por el rendimiento y_x . Este rendimiento se puede expresar como:

$$y_x = -\frac{dx}{ds} = -\frac{dx/dt}{ds/dt} = \frac{r_x}{r_s} = \frac{\mu}{q_s} \quad [10]$$

68

por tanto

$$r_s = \frac{r_x}{y_x} \quad [11]$$

reemplazando en la ecuación anterior la expresión [4] queda:

$$r_s = \frac{\mu_m}{y_x} \cdot \frac{S}{k_s + S} \cdot x \quad [12]$$

A medida que S tiende a cero, r_s también.

En la fase exponencial, $S \gg k_s$ y X viene dado por la ecuación [7], por tanto:

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{\mu_m}{y_x} \cdot x_0 \cdot e^{\mu_m t} \quad [13]$$

Si a tiempo 0, $S = S_0$ implica:

$$S = S_o - \frac{X_o}{y_x} (e^{\mu_m t} - 1) \quad [14]$$

La ecuación [14] da la variación de S en función de t durante la fase exponencial.

Si se conoce de antemano el rendimiento y_x (o Y_x) y las concentraciones iniciales de sustrato y biomasa, es fácil estimar el valor de X_f ya que:

$$\Delta x = -Y_x \cdot \Delta S \quad [15]$$

$$x - x_o = Y_x (S - S_o) \quad [16]$$

Si S es el sustrato limitante, se tendrá que para $x = x_f$ será $S_f = 0$, por tanto:

$$x_f = x_o + Y_x \cdot S_o \quad [17]$$

La ecuación [16] permite calcular S para un X dado (o viceversa) en cualquier parte de la curva de crecimiento, siempre y cuando Y_x (o y_x) se mantenga constante. Alternativamente, la ecuación [16] puede emplearse para verificar si tal supuesto se cumple ya que la gráfica de $(x - x_o)$ en función de $(S_o - S)$ deberá ajustarse a una recta. De todos modos siempre es posible calcular un rendimiento global, independientemente de las variaciones que pueda tener durante el cultivo, empleando sólo valores iniciales y finales:

$$Y_{x/s} = - \frac{x_f - x_o}{S_f - S_o} \quad [18]$$

II.3. La generación de lodos residuales en los procesos biológicos de tratamiento: la problemática asociada a su gestión.

Actualmente, la producción de fango residual en los sistemas biológicos de tratamiento y, en concreto, en la unidad de lodos activos es uno de los más serios problemas encontrados en el tratamiento aeróbico de las aguas residuales. La aplicación y cumplimiento de nuevas reglamentaciones ambientales (Directiva 2000/60/CE Marco de Aguas, Directiva 2006/7/CE de Aguas de Baño, etc.) a todas las aguas residuales generadas en el ámbito de la Unión Europea conllevará a un aumento en la cantidad de lodos residuales generados en las estaciones de tratamiento. La tasa de generación de estos residuos se va a incrementar, según previsiones en el ámbito de la Unión Europea (UE), hasta más de 10 Mt/año (Werther y Ogada, 1999). La Tabla II.11 muestra la evolución de la cantidad de fangos generados (en miles de toneladas) durante la última década en los distintos países de la UE, Islandia, Noruega y Suiza.

En el caso concreto de **España**, la cantidad de lodos de depuradora se ha incrementado en los últimos años con la entrada en vigor, entre otras leyes, del Real Decreto-Ley 11/1995 de la Jefatura de Estado, de 28 de diciembre, por el que se establecen las normas aplicables al tratamiento de las aguas residuales urbanas, o los Planes Nacionales de Saneamiento y Depuración del periodo 1995-2005 y, el más reciente, de 2007-2015. Según datos del Registro Nacional de Lodos (RNL) del extinto Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA), actual Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino (MARM), la producción de lodos se ha incrementado en un 39% en el periodo 1997-2005. La Figura II.17 muestra la cantidad de fango generado por año en dicho periodo. Las CCAA que más lodos producen son Cataluña, Madrid y la Comunidad Valenciana.

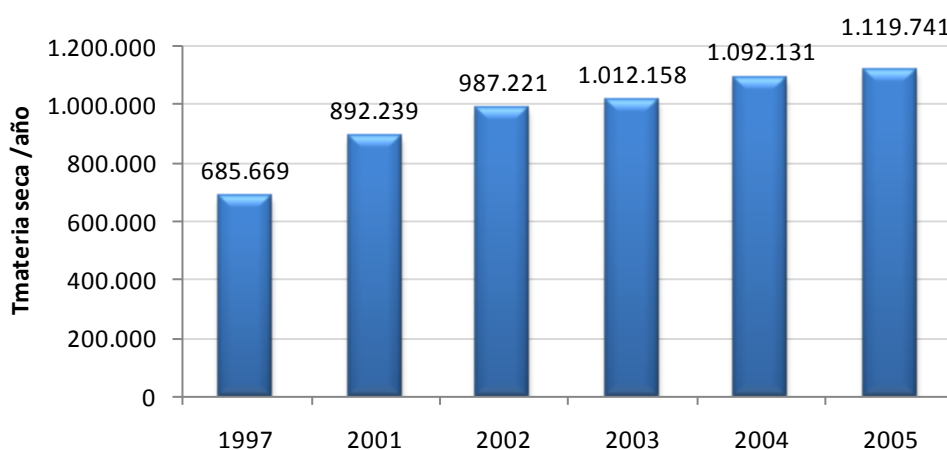


Figura II.17. Evolución de la generación anual de LD (t materia seca/ año)

Fuente: Registro Nacional de Lodos del MAPA (EDAR PNLD- 2007-2015)

Tabla II.11. Producción de lodos (miles de toneladas) en las depuradoras de aguas residuales urbanas en Europa (1996-2007).

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Austria	-	215.5	211.9	-	314.8	-	323.1	-	304.6	-	-	-
Bélgica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bulgaria	53.0	51.0	52.0	60.0	48.0	45.2	39.8	42.9	57.4	41.8	38.0	39.9
República Checa	178.0	175.9	186.2	198.2	206.7	205.6	211.4	180.1	178.8	171.9	175.4	172.3
Dinamarca	161.7	151.0	153.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alemania	-	-	2482.0	-	-	2429.4	-	-	2260.9	2169.6	2048.5	-
Estonia	-	-	-	-	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0
Irlanda	-	34.5	-	37.6	33.7	37.6	-	-	-	59.8	-	-
Grecia	-	59.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
España	686.0	689.0	716.2	784.9	853.5	892.2	987.2	1012.2	1092.0	1120.6	-	-
Francia	-	814.0	971.4	-	-	954.0	-	-	1059.8	-	-	-
Italia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1056.4	-	-
Chipre	-	-	-	-	-	-	-	-	8.8	8.3	-	-
Letonia	-	-	-	-	-	-	21.5	29.3	36.2	28.9	-	-
Lituania	400.0	485.0	486.0	535.0	257.0	242.0	-	-	-	65.7	71.1	76.5
Luxemburgo	-	-	-	16.5	-	-	-	12.5	-	-	-	-
Hungría	80.6	81.0	87.4	86.5	102.1	114.6	117.4	152.2	184.0	-	-	-
Malta	-	-	-	-	-	-	-	0.1	0.1	0.0	-	-
Holanda	368.0	359.0	358.0	372.0	346.0	358.0	365.0	353.2	353.7	359.1	372.7	-
Polonia	327.0	363.0	340.0	354.0	359.8	397.2	435.7	446.5	476.1	486.1	501.3	533.4
Portugal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rumanía	-	-	-	-	-	-	-	-	-	67.8	225.6	-
Eslovenia	-	-	6.6	-	8.8	8.2	7.0	8.7	9.6	13.6	19.5	21.1
Eslovaquia	82.5	88.9	54.2	60.7	56.3	53.4	51.3	54.3	53.1	56.4	-	-
Finlandia	130.0	136.0	158.0	160.0	160.0	-	-	-	-	-	-	-
Suecia	-	-	221.0	221.0	220.0	220.0	220.0	220.0	210.0	210.0	210.0	-
Reino Unido	1078.0	1004.0	1058.0	-	-	1527.5	1543.8	1656.0	1721.4	1770.7	-	-
Islandia	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.6	1.0	1.2	-	-	-	-
Noruega	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suiza	190.0	-	200.0	-	202.0	-	200.0	-	205.0	-	210.0	-

Fuente: EUROSTAT. Publicación- © Instituto Aragonés de Estadística, diciembre de 2008

¿Qué hacer con tal cantidad de subproductos no deseados pero “inevitables” en el tratamiento de las aguas residuales? La problemática asociada a la generación de los lodos de depuradora se ha abordado desde dos puntos de vista: el normativo, mediante la promulgación de leyes y planes específicos para este tipo de residuos, y el tecnológico, mediante la aplicación de sistemas de tratamiento finales.

Contexto normativo aplicable a la gestión de lodos de depuradora

En junio de 2001 se aprobó el I Plan Nacional de Lodos de Depuradora-EDAR 2001-2006 (I PNLD), publicado en el BOE del 12 de julio que tenía por objeto mejorar la gestión de los lodos, y en particular optimizar la aplicación agrícola, protegiendo el medio ambiente y especialmente la calidad del suelo. Este plan se marcaba los siguientes objetivos:

- La reducción en origen de la contaminación de los lodos.
- La caracterización de los lodos generados en España.
- La valorización de, al menos, el 80% de los lodos generados antes del 2007.
- La reducción hasta un máximo del 20% del depósito de lodos en vertedero, antes del 2007.
- La creación de un sistema estadístico y bases de datos sobre lodos de depuradora y su gestión.

En lo que se refiere específicamente a las tecnologías utilizables para la valorización del 80% de los lodos generados se indicaba lo siguiente:

- Valorización en usos agrícolas del 25% de los lodos, previamente compostados.
- Valorización en usos agrícolas del 40% de los lodos tratados anaeróbicamente o sometidos a otros tratamientos.
- Valorización energética del 15% de los lodos, con una correcta gestión ambiental del 100% de las cenizas de incineración.

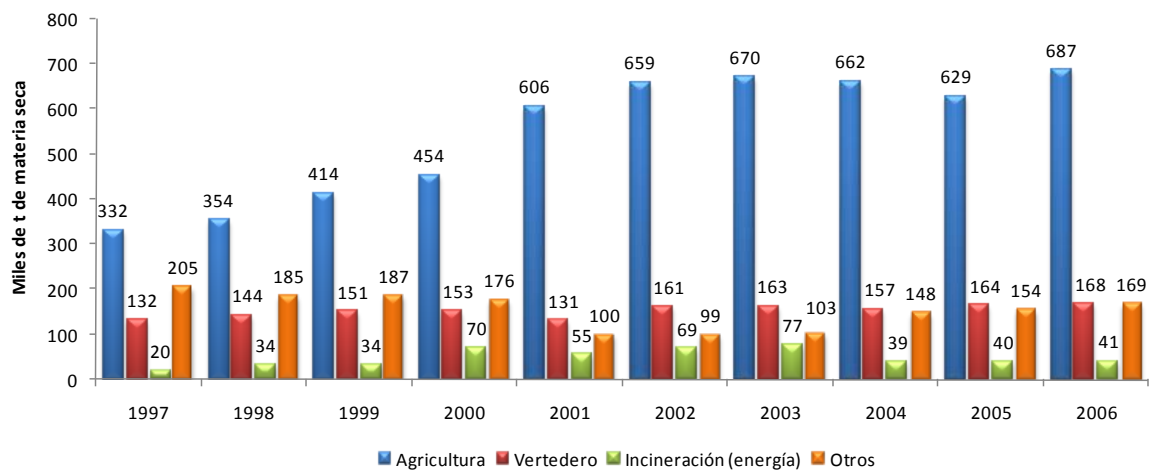
Así, siempre que los lodos cumplan los requisitos legales establecidos - tales como un bajo contenido en metales pesados y otros contaminantes orgánicos, así como en organismos patógenos y que exista disponibilidad de suelo apto para su aplicación – se considera que la opción más sostenible es el reciclaje de nutrientes y materia orgánica mediante su aplicación al suelo.

Sin embargo, la aplicación directa al suelo de lodos de depuradora sin tratar está prohibida por la Legislación Europea (DE 86/278/CEE), que fue transpuesta a la Legislación Española por el RD 1310/1990. En este sentido, el I PNLD indicaba que la aplicación al suelo requiere someter a los lodos previamente a alguno de los siguientes tratamientos de estabilización:

- Tratamientos biológicos: aerobios o anaerobios.
- Térmicos: secado o pasteurización.

- Químicos: encalado.
- Almacenamiento prolongado.

A modo de valoración general hay que señalar que ya en el 2005 se alcanzaba el objetivo de valorización agrícola que el Plan proponía para el 2006, que en el campo de la prevención, el control y la regulación de los vertidos industriales a la red de saneamiento se ha traducido en una disminución del contenido en metales pesados (Ni, Pb, Zn y Cr) de los lodos destinados a uso agrícola. Concretamente, en dicho año el 65% de los lodos se destinaban a uso agrícola, una parte de ellos compostados, mientras que un 22% tenían como destino final los vertederos controlados. La Figura II.18 muestra la evolución de los destinos finales de los lodos de depuradora en el periodo 1997-2005.



Fuente: Banco Público de Indicadores Ambientales del MARM (2008)

Figura II.18. Destino final de los lodos generados en la depuración de las aguas residuales medidos como materia seca.

Asimismo, durante el periodo 2001-2006 se llevaron a cabo los estudios y análisis previstos en dicho Plan para mejorar el conocimiento de las características, los tratamientos de los lodos así como las características de los suelos receptores.

Sin embargo, quedaba pendiente la clarificación competencial en materia de gestión de lodos y el desarrollo de una norma y guías para establecer unas pautas claras para la gestión con independencia de si el destino era el uso en el suelo o no. Tampoco se había profundizado suficientemente en la selección de los tratamientos adecuados al destino previsto y seguía siendo necesario incrementar la capacidad de almacenamiento en las depuradoras. Por ello, en el año 2007 se redactó un segundo Plan Nacional de Lodos de Depuradoras de Aguas Residuales que abarca el periodo 2007-2015, dentro del Plan Nacional Integrado de Residuos

(PNIR). El nuevo plan de lodos (II-PNLD), vigente en la actualidad, tiene los siguientes objetivos ecológicos:

Objetivos cualitativos:

- Clarificar la responsabilidad y la competencia para autorizar y controlar las operaciones de gestión.
- Asegurar una infraestructura adecuada de instalaciones de almacenamiento, tratamiento y eliminación.
- Mejorar la gestión ambiental de los LD, ajustando su calidad al destino final.
- Establecer criterios homogéneos y normalizados para su correcta gestión.
- Prevención de la contaminación los LD en coordinación con las actividades de saneamiento.
- Ampliar y mejorar la coordinación entre las distintas Administraciones y Agentes privados e involucrados, en particular entre los Departamentos de Medio Ambiente, Agricultura y Saneamiento y Calidad de las Aguas.
- Minimización de los LD destinados a depósito en vertedero.
- Mejora del sistema estadístico y de generación de datos.

Objetivos cuantitativos:

- Valorización en usos agrícolas de, al menos el 70%, de los LD antes del 2011.
- Valorización energética de un 15% como máximo de los LD antes de 2011.
- Depósito en vertedero de un máximo de un 15% de los LD antes de 2011.
- Correcta gestión ambiental del 100% de las cenizas de incineración de LD.

Con frecuencia en la valorización de los biosólidos tienen lugar varios tratamientos encadenados, a veces innecesarios e incluso perjudiciales desde el punto de vista ambiental. Por ello, un objetivo del nuevo Plan Nacional de Lodos de Depuradora (2007-2015), consiste en precisar los tratamientos realmente necesarios para optimizar la valorización de los LD.

En algunos casos es posible mejorar de manera significativa la eficacia de los tratamientos introduciendo pequeñas modificaciones en los procesos. Las medidas que se adopten en este sentido propiciarán, no sólo una mejor gestión, sino su abaratamiento. También se pretende mejorar la eficiencia energética de estos procesos, minimizando los consumos de energía no

renovables y produciendo ésta siempre que sea posible, por ejemplo, a partir del metano generado en los procesos anaerobios. Según el II PNLD, los tratamientos aplicados actualmente en las EDAR son los siguientes:

- Digestión anaerobia mesofílica con o sin aprovechamiento energético
- Digestión anaerobia mesofílica con o sin aprovechamiento energético del metano seguida en algunos casos de compostaje y en otros de secado térmico, que puede ser seguido en algún caso por la incineración
- Deshidratación y compostaje
- Deshidratación y secado térmico
- Deshidratación, secado térmico y compostaje
- Estabilización aerobia con o sin compostaje posterior
- Estabilización química
- Secado térmico e incineración
- Secado térmico y co-incineración en cementeras

Tratamientos finales de los lodos de EDAR

La Figura II.19 muestra un esquema de las distintas alternativas de tratamiento final aplicable a los lodos de depuradora una vez estabilizados y deshidratados, y que tienen como objetivo final adecuar los lodos para poder utilizarlos bien como mejoradores del suelo o bien en la producción de energía. Se trata de tratamientos finales en el sentido que no suelen seguirse de ningún tratamiento posterior de los rechazos sólidos (cenizas) que suelen depositarse, finalmente, en vertederos.

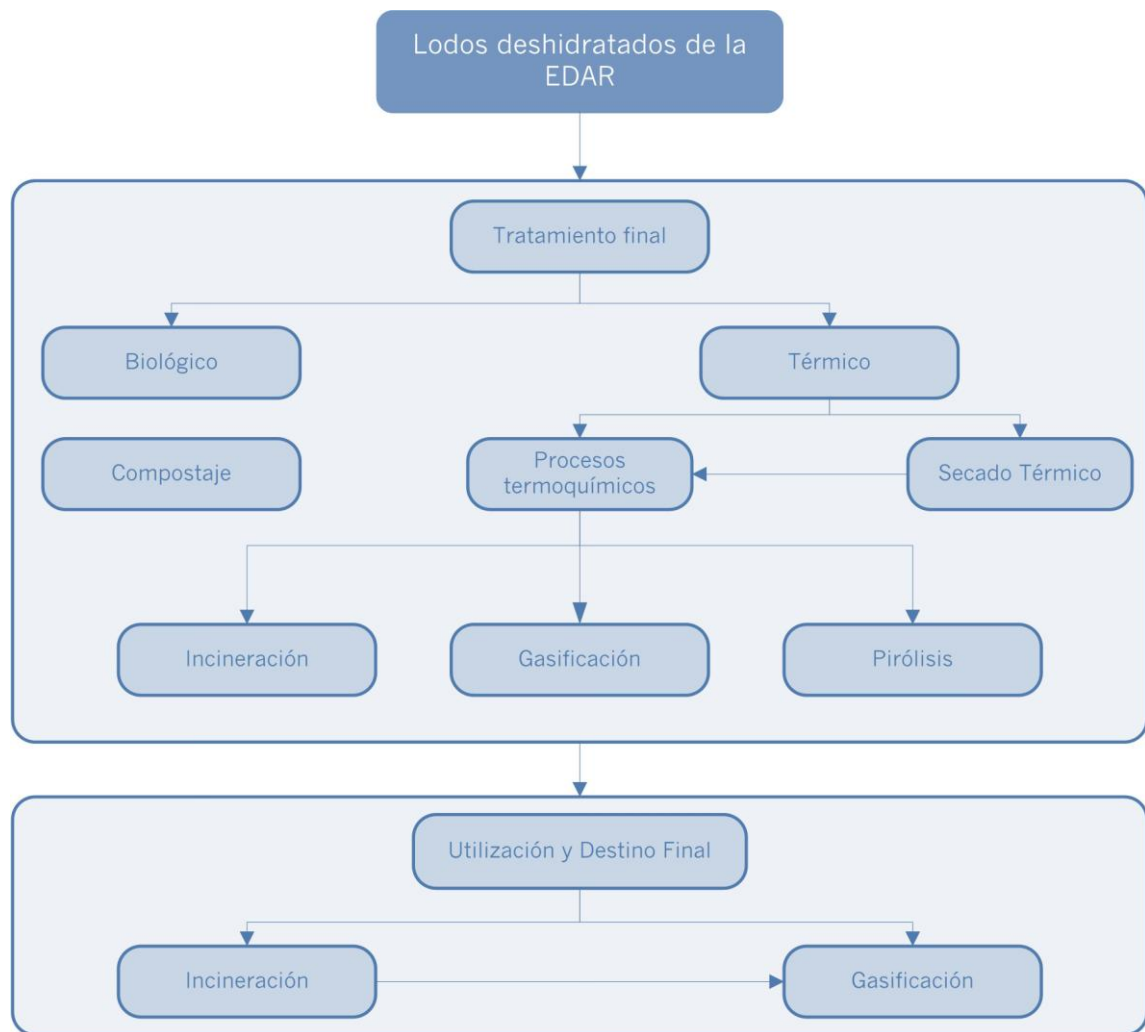


Figura II.19. Esquema de los tratamientos finales de los lodos de EDAR

A continuación, se realiza una breve descripción de los procesos de compostaje y térmicos empleados en el tratamiento final de los lodos de depuradora.

Compostaje

Por compostaje se entiende la descomposición, mediante bacterias y hongos, del material orgánico contenido en los lodos de depuradora deshidratados para producir un producto estable.

Según la Directiva Europea sobre tratamiento biológico de residuos, el compostaje es la descomposición biológica autotérmica y termofílica de biorresiduos recogidos selectivamente, en presencia de oxígeno y en condiciones controladas por la acción de micro y macro-organismos, con el objeto de producir compost.

Los objetivos generales del compostaje son:

- Transformar materiales orgánicos biodegradables en un material biológicamente estable, y en el proceso reducir el volumen original de los residuos.
- Destruir patógenos
- Retener el máximo contenido nutricional (nitrógeno, fósforo y potasio)
- Elaborar un producto que se pueda utilizar como mejorador de suelos

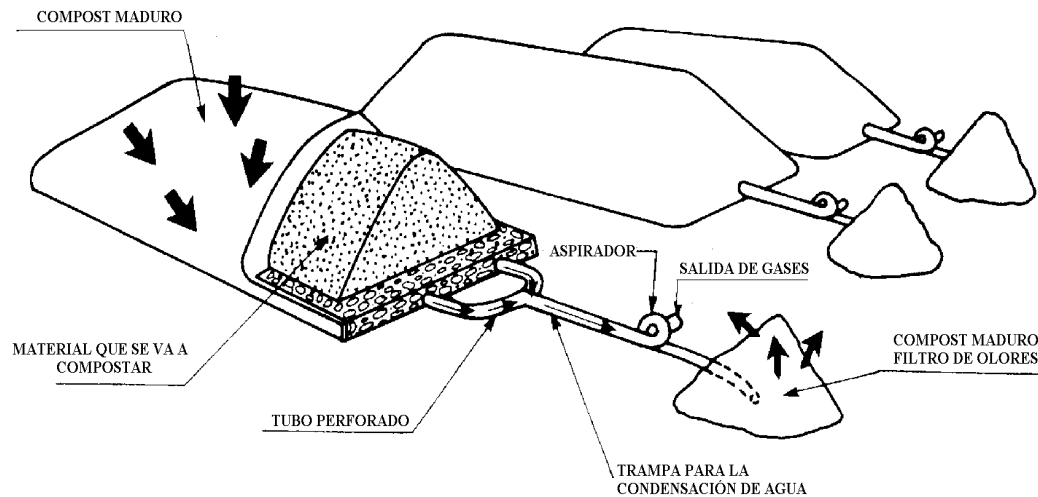
Al igual que ocurre con la mayoría de los procesos de tratamiento biológico de residuos, el compostaje consiste únicamente en acelerar, mediante la implantación de las condiciones idóneas para los microorganismos responsables del proceso, las transformaciones que se producen naturalmente en los suelos. El proceso suele desarrollarse hasta estabilización completa del lodo, obteniéndose un producto que puede ser utilizado como mejorador del suelo, ya que posee unas características físico-químicas adecuadas y una baja concentración de microorganismos patógenos.

Aunque pueden utilizarse varios tipos de procesos de compostaje, el conjunto de etapas generales del proceso son las siguientes:

- Pre-procesamiento: El lodo deshidratado se mezcla con un agente desaglutinante, tal y como virutas de madera, otros materiales orgánicos secos o compost reciclado, con objeto de aumentar su porosidad, reducir el contenido en humedad y suministrar una fuente suplementaria de carbono, para ajustar la relación C/N.
- Biodegradación: La mezcla obtenida se airea durante 15 ó 30 días mediante soplates, mezclado periódico o mediante una combinación de ambas técnicas. El calor generado por la descomposición microbiana del lodo sólido evapora una gran cantidad de agua e inactiva muchos de los microorganismos patógenos.
- Maduración o curado: El compost se envejece o cura durante un tiempo adicional hasta que se alcanza la estabilización total. En esta etapa se degrada el material lignocelulósico de lenta biodegradación.
- Refinado: Para preparar el material para su comercialización es necesario adecuarlo a las necesidades del mercado lo que suele requerir una trituración y un tamizado. El agente desaglutinante puede volver a ser recuperado durante el tamizado.

Las variables que determinan el peso y volumen de compost obtenido son el contenido en sólidos degradables, el contenido en humedad del lodo deshidratado y el tipo de procesamiento seguido tras el compostaje. En general, la masa de compost acabado es del orden del 50% ó 60% inferior a la masa de sólido húmedo que entra al proceso y el producto es siempre menos denso que el lodo húmedo.

Principalmente se usan tres tipos de sistemas de compostaje: hilera, pilas estáticas (aireadas o con volteo) y biorreactores. Las hileras y pilas estáticas, que a veces se citan como sistemas abiertos, se emplean más frecuentemente que los reactores cerrados. A modo de ejemplo, se muestra el esquema de un sistema de pilas estáticas aireadas.



Entre las ventajas del compostaje pueden citarse las siguientes:

- se obtiene un producto final estabilizado y comercializable
- se alcanza un alto nivel de higienización por destrucción de microorganismos patógenos
- el compost obtenido puede aplicarse al terreno actuando como enmienda orgánica, mejorando la textura del terreno y fomentando la capacidad de retención de agua
- el proceso de compostaje puede combinarse fácilmente con otros procesos
- presenta unos costes iniciales relativamente bajos cuando se utilizan las tecnologías abiertas, aunque estarán condicionados al valor del terreno.

Respecto de los inconvenientes, cabe resaltar los siguientes (Mahamud, 2000):

- requiere contenidos en sólidos entre el 40 y el 60% así como la incorporación de un agente estructurante
- es preciso disponer de un sistema de aireado a presión o bien volteado mecánico

- debido a lo anterior, existe una posible dispersión de patógenos a través del polvo
- presenta elevados costes de operación y grandes requerimientos de terreno
- precisa la incorporación de otro material como fuente de carbono
- es un productor potencial de olores, aunque un diseño y operación adecuada minimizan este extremo.

En cuanto al producto final obtenido en el proceso de compostaje, en el II Plan Nacional de Lodos de Depuradora se indica que el MMA, en colaboración con las CCAA, ha llevado a cabo un estudio analítico para caracterizar la calidad de los distintos tipos de compost fabricado con lodos de depuradora y con residuos sólidos urbanos (RSU) de recogida mixta, obteniéndose las siguientes conclusiones:

- El compost de LD contiene más nutrientes que el de RSU, principalmente N y P.
- Hay pocas diferencias significativas en los otros parámetros de calidad regulados en la vigente legislación (materia orgánica total, H, C/N, granulometría y metales pesados), salvo en la relación C/N, más alta en el compost de RSU, y en los metales pesados, más elevados en el compost de RSU; éstos últimos sobrepasan con cierta frecuencia los límites legales establecidos para los metales pesados.

De hecho, el Real Decreto 824/2005 (BOE nº 171, de 19 de julio de 2005), sobre productos fertilizantes, incluye los LD como posible material orgánico para la fabricación de fertilizantes.

Secado térmico

El secado térmico de los lodos de depuración consiste básicamente en la eliminación del agua que contienen mediante su evaporación, permitiendo reducir el volumen de lodos gracias a la eliminación del agua intersticial y estabilizar y desinfectar los lodos cuando el contenido en materia seca supera el 90%. Por otra parte, el secado térmico puede realizarse para aumentar el poder calorífico del lodo antes de someterlo a un proceso de oxidación térmica, permitir la utilización de técnicas de esparcimiento sobre el terreno similares a las utilizadas para fertilizantes minerales y reducir los costes de transporte (Comisión Europea, 2001).

La transmisión del calor necesario para lograr dicha evaporación se efectúa normalmente por medio de un fluido térmico (aire, vapor o aceite), que es el que aporta el calor necesario al proceso. Este calor deberá ser generado a través de un consumo de energía que, como mínimo, será el correspondiente al calor latente de vaporización del agua: 600 - 650 Termias/t (de Castro, 2002). No obstante, en la práctica, dependiendo de la eficiencia del proceso de secado, el calor necesario a aportar en los secadores varía entre las 750 y 900 Termias/t de agua (Perdices, 1999).

Los dos tipos fundamentales de utilidades de los lodos secados térmicamente son la valorización agrícola y la valorización energética.

Los requerimientos energéticos para el secado son muy superiores que para la deshidratación cuando se compara el volumen de agua extraída. Por consiguiente, en la mayoría de los casos, el secado se realiza después de la etapa de deshidratación.



Figura II.21. Diagrama de flujo general para un proceso de secado térmico (EEA, 1997)

Entre las ventajas del proceso de secado térmico de fangos pueden resaltarse las siguientes (de Castro, 2002):

- El secado térmico permite reducir casi cuatro veces el volumen respecto de los lodos deshidratados de partida.
- El secado térmico permite una cierta estabilización del lodo por efecto del calor (Permuy, 2002). No obstante, existe una diferencia fundamental con los procesos de estabilización ya que el secado térmico no provoca una reducción apreciable de la materia orgánica volátil presente en los lodos, por lo que los lodos desecados térmicamente no son estables, a menos que el lodo de partida haya sido previamente digerido.
- Se alcanzan elevados grados de higienización ya que las altas temperaturas a las que son sometidos los lodos durante el proceso de secado, en combinación con los tiempos de permanencia en el interior del secador, aseguran la eliminación o inactivación de los patógenos que inicialmente pudieran contener estos residuos (Carrington, 2001).
- Las instalaciones de secado ocupan muy poco espacio en relación con la gran capacidad de tratamiento que suelen presentar (Perdices, 1999).

- El agua evaporada durante el secado es condensada y conducida a cabecera de estación depuradora, por lo que no existen lixiviados y los gases de salida pueden ser tratados antes de su salida a la atmósfera (González, 2001; Ortega 2002).
- El secado térmico de lodos cuenta actualmente con un importante desarrollo industrial y es una tecnología contrastada (Cazurra, 1999; Galdós, 2001)
- Los lodos desecados térmicamente presentan múltiples posibilidades de valorización y/o disposición final. Su aprovechamiento principal suele ser su aplicación al suelo, como fertilizante orgánico, aunque también pueden incinerarse o utilizarse en otros sistemas de valorización energética.

Como inconvenientes más importantes del secado térmico de lodos de depuración, cabe citar los siguientes (de Castro, 2002):

- Altos costes de inversión y mantenimiento, muy superiores a los de otras tecnologías menos intensivas de postratamiento de lodos, especialmente en el caso de contemplarse instalaciones de cogeneración asociadas.
- Altos costes de explotación. Sin embargo, a una escala industrial apropiada estas tecnologías permiten la utilización de la cogeneración como forma de aprovechamiento energético, tanto eléctrico como de calor, lo cual supone que en estos casos los costes de explotación resulten similares a los de otras tecnologías de postratamiento de lodos tradicionalmente más competitivas (Perdices, 1999).
- Necesidad de contar con grandes instalaciones, ya que los costes de explotación aumentan considerablemente en unidades con una capacidad de tratamiento nominal inferior a las 80.000 t/año de lodos deshidratados (Perdices, 1999).
- Alta complejidad tecnológica del proceso, requiriéndose en todos los casos el empleo de personal cualificado para la operación y mantenimiento de este tipo de instalaciones.
- Al no producirse una estabilización completa del lodo, si la salida del proceso de secado térmico presenta un contenido de humedad elevado (estimado según algunos autores en valores por encima del 10%), o bien son rehumectados con posterioridad, pueden llegar a ser microbiológicamente activos y, por lo tanto, fermentar y generar olores desagradables y, en casos extremos - en combinación con un aporte de oxígeno exterior adicional -, autocombustionar espontáneamente.
- Necesidad de dotar a estas instalaciones con sofisticados sistemas de seguridad, con el fin de evitar riesgos de incendios e incluso de explosión asociados a una posible autocombustión de los lodos secos y del polvo generado durante el proceso (Davis, 2002).

Procesos termoquímicos

Pueden diferenciarse los siguientes procesos termoquímicos (Garraón, 2003): la incineración o combustión, la pirólisis, la gasificación y los procesos mixtos.

Incineración/ Combustión:

La incineración o combustión de los lodos se puede definir como su destrucción térmica a elevada temperatura en presencia de exceso de oxígeno. Como consecuencia de las reacciones de oxidación se obtiene un gas que contiene CO_2 , H_2O , O_2 y N_2 . La presencia de otros componentes en el gas de incineración depende de las condiciones de operación y de las características de la alimentación y es uno de los principales problemas del proceso.

En las grandes áreas urbanas, las alternativas de uso de los lodos producidos pueden no ser económicamente viables debido al gran volumen de lodos producidos y al coste del transporte al lugar de destino. En estas circunstancias, la incineración de los lodos puede ser considerada como una alternativa atractiva si se tiene en cuenta que produce una importante reducción en volumen del residuo, con una notable estabilidad y ausencia de compuestos orgánicos. Las cenizas obtenidas representan un 30% de los sólidos totales contenidos en los lodos.

Aunque los biosólidos poseen una composición mayoritariamente orgánica, el proceso de combustión no será autotérmico para lodos con contenidos en materia seca inferiores al 20%. Para sequedades por encima del 30% la combustión puede llevarse a cabo sin aporte de un combustible auxiliar (Mahamud, 2000).

Las principales ventajas del proceso de incineración de lodos son: los biosólidos son reducidos a cenizas in situ, se trata de una alternativa de depósito a largo plazo con una notable reducción de volumen, destruye todos los microorganismos y oxida los compuestos tóxicos, los metales pesados en las cenizas son menos solubles, con un diseño adecuado la incineración puede ser económicamente viable y, finalmente, existe la tecnología adecuada para mantener bajos niveles de emisiones.

Por otra parte, respecto de los inconvenientes de la incineración cabe resaltar que se trata de la alternativa más costosa de eliminación de lodos y que pueden generarse problemas medioambientales derivados de las emisiones del proceso (CO_2 , SO_2 , óxidos de nitrógeno, dioxinas, furanos) (Mahamud, 2000).

Gasificación:

La gasificación es un proceso endotérmico autosostenido en el que un material combustible se convierte, con aire u oxígeno, en un gas combustible y un residuo inerte. Este proceso se ha utilizado durante mucho tiempo para producir gas a partir de carbón.

En la gasificación se utiliza un defecto estequiométrico de oxígeno y se desarrolla a elevada temperatura: entre 900 y 1100°C con aire o bien entre 1000 y 1400°C con oxígeno. La

gasificación con aire, que suele ser la más empleada, genera un gas que contiene, normalmente, monóxido de carbono, dióxido de carbono, hidrógeno, metano, agua, nitrógeno y pequeñas cantidades de otros hidrocarburos. El nitrógeno representa entre un 55 y un 60% del gas, por lo que presenta un bajo PCI que oscila de 4 a 10 MJ/Nm³ (European Commission, 2001; IEA CADDET, 1998). El gas obtenido puede quemarse en un motor de combustión interna, turbina de gas o caldera, suministrando oxígeno adicional.

La gasificación posibilita que el volumen de gas de salida se reduzca drásticamente puesto que el dióxido de carbono y el agua que se forman internamente participan en la reacción y el nitrógeno, que es no deseado ya que reduce el poder calorífico del gas, puede ser eliminado suministrando oxígeno puro. Las comparaciones establecidas en la bibliografía indican que, mientras durante la mono y co-combustión de lodos de depuradora se forman 24-30 m³ de gas de salida por kg de lodo seco, en la gasificación con oxígeno puro se generan, solamente, 1,7 m³ (Werther y Ogada, 1999).

Pirólisis:

La pirólisis es una descomposición térmica que se desarrolla en ausencia de oxígeno a temperaturas en el rango de 300 a 900°C. El proceso consiste en una serie de reacciones químicas complejas que conducen a la descomposición y ruptura de la materia orgánica y la separación de diferentes componentes en gases individuales (Werther y Ogada, 1999).

A diferencia de los procesos de combustión y gasificación, que son extremadamente exotérmicos, la pirólisis es altamente endotérmica y requiere un aporte de calor externo. La pirólisis comienza sobre los 275°C y es prácticamente completa a los 450°C, aunque pueda producirse el craqueo de algunas moléculas de los productos formados a temperaturas superiores.

Los productos de la pirólisis son (Tchobanoglous, 1994): un residuo carbonoso, aceite pirolítico (Bio-oil) y gas de medio PCI (hidrógeno, metano, monóxido de carbono). La naturaleza y composición de los productos finales depende de las propiedades del lodo tratado, de la temperatura y de la presión de operación, y de los tiempos de retención del material en el reactor. A medida que aumenta la temperatura de pirólisis, se incrementa la proporción de gases producidos y disminuye la de los combustibles líquidos y sólidos. El poder calorífico del gas de pirólisis oscila entre 3,8 y 20,9 MJ/m³, por lo que puede ser utilizado como combustible, el residuo carbonoso puede también ser quemado como combustible o desechado y el aceite puede ser utilizado como material de partida para industrias químicas o combustible (Caballero, 1997).

Las ventajas del proceso incluyen la reducción del lodo de depuradora a un pequeño volumen de residuos inertes, la producción de un aceite de alta calidad que puede ser utilizado en varios procesos químicos, la exclusión de la formación de subproductos peligrosos (alquitranes y dioxinas) debido a las bajas temperaturas de operación y que los metales pesados quedan retenidos, principalmente, en los subproductos (Werther y Ogada, 1999).

Para finalizar, en la tabla II.12 se incluye una comparación de costes de las principales tecnologías y/o procesos para el tratamiento final de los lodos de depuradora.

Tabla II.12. Resumen de costes de tecnologías disponibles para el tratamiento de fangos en el año 2002 (Sevilla M. et al., 2005)

Tecnología	Material	Capacidad normal de las unidades (t / año)	Capacidad normal de las unidades (t MS/año)	Inversión		Explotación euros/t MS
				Millones de euros	euros / t MS (año)	
SECAIDO Secado térmico + quemador Secado térmico + cogeneración Secado STC + cogeneración Secado eléctrico con bomba de calor Secado térmico + cogeneración + gasificación	Lodo deshidratado	50.000 – 200.000 50.000 – 200.000 10.000 – 47.000 10.000 – 33.000 50.000 – 200.000	11.500 – 46.000 11.500 – 46.000 2.300 – 10.800 2.300 – 7.600 11.500 – 46.000	4,8 – 13,8 9,6 – 27,0 2,6 – 7,8 1,4 – 2,8 14,4 – 39,1	290 – 410 590 – 830 730 – 1.120 360 – 610 850 – 1.250	105 – 130 40 – 110 60 – 140 150 – 220 30 – 110
OXIDACIÓN Oxidación supercrítica (SCWO) Sistema Vertech	Lodo espesado	90.000 622.000	20.700 28.000	4,3 36,1	210 1.290	200 250
BIOMETANIZACIÓN Biometanización + cogeneración	FORSU / LODO (80 / 20)	35.000 – 140.000	8.100 – 32.200	12,0 – 28,8	890 – 1.500	70 – 140
INCINERACIÓN Presecado + incineración + turbina a vapor Presecado + Incineración (Dordrecht) Incineración + turbina a vapor	Lodo deshidratado	50.000 – 200.000 240.000 50.000 – 200.000	11.500 – 46.000 55.200 11.500 – 46.000	25,2 – 72,7 77,5 29,4 – 85,3	1.590 – 2.180 1.400 1.850 – 2.570	220 – 320 250 250 – 350
COMPOSTAJE Compostaje windrow – s/bulking Compostaje windrow Compostaje tunnel Compostaje canal	Lodo deshidratado	10.000 – 150.000 10.000 – 150.000 10.000 – 150.000 10.000 – 150.000	2.300 – 34.500 2.300 – 34.500 2.300 – 34.500 2.300 – 34.500	0,5 – 3,1 0,5 – 3,1 2,5 – 18,3 1,2 – 7,8	90 – 240 90 – 240 530 – 1.080 220 – 510	20 – 85 40 – 85 90 – 170 60 – 140

II.4. La reducción en origen de la producción de lodos de depuradora.

La cantidad de fango residual generado diariamente en un sistema convencional de lodos activos ronda los 15-100 litros por kilogramo de DBO_5 eliminada, en la cual el 95% es agua (Bitton, 1994, Tchobanoglous G. y Burton F., 1995;). Suponiendo un caudal medio diario de $15.000 \text{ m}^3/\text{d}$, correspondiente al caudal de una población en torno a los 100.000 habitantes, y una contaminación orgánica influente de $400 \text{ mgDBO}_5/\text{l}$, resultan aproximadamente unos $90.000\text{-}600.000 \text{ m}^3$ de fangos residuales que requieren de un tratamiento posterior, tal y como se ha indicado en el apartado anterior.

En las grandes estaciones depuradoras, este tratamiento se basa normalmente en una digestión anaerobia, con la consecuente producción de biogas y la posible generación de energía a través de la combustión del mismo. En las medianas y algunas pequeñas instalaciones, la digestión aerobia es la tecnología más empleada. En otras instalaciones, las más pequeñas, no existe línea de fangos. En este último caso, el lodo residual es retirado de la planta por un gestor autorizado y llevado a una planta de tratamiento de residuos (que puede ser una estación depuradora con línea de fangos). Cualquiera de las soluciones adoptadas conlleva un coste asociado, en muchos casos muy elevado como se ha comprobado en el apartado anterior, y que suele representar entre el 25-65% de los costes de operación de las plantas de tratamiento (Horan, 1999; Zhao and Kugel, 1997).

El problema se agrava ya que la disposición final de estos lodos está cada vez más limitada. Desde hace dos décadas la eliminación y la disposición final al océano han sido prohibidas. Las consideraciones de contaminación costera y del aire han limitado el uso de los procesos de incineración, así como los costos y la no conformidad ciudadana a la ubicación de este tipo de tecnologías cerca de sus lugares de vida, fomentando de esta forma el uso de la disposición en el terreno, y su reutilización como reconstituyente del suelo para su uso agrícola.

A pesar de los intentos por mejorar los tratamientos de valorización de los lodos de depuradora, en la mayoría de los casos muy costosos, la creciente generación y acumulación de los mismos, y los limitados destinos finales, representa un problema importante que urge resolver. Por tanto, la alternativa al tratamiento de estos residuos es evitar la generación de los mismos. Se trata de priorizar vías que minimicen la producción de estos lodos generados frente a soluciones asociadas al tratamiento de los mismos. Siguiendo el principio de prevención de la contaminación, es prioritario, por tanto, reducir la cantidad de fangos residuales generados en el tratamiento de las aguas residuales, lo que conllevaría tanto beneficios medioambientales como económicos.

La reducción en origen es, en definitiva, la línea de actuación más interesante en materia de prevención, y se encuentra en continuo desarrollo. De hecho es uno de los principios básicos de gestión definidos en el II PNLD. Esta línea de actuación ofrece amplias posibilidades, desde modificaciones sencillas en algunas operaciones, equipos o sistemas del proceso, hasta transformaciones más profundas que implican la sustitución de tecnologías o esquemas de

tratamiento convencionales por otras más avanzadas, conceptos que se pretende aplicar en el tratamiento de las aguas residuales.

Por tanto, la nueva perspectiva en la gestión de fangos consiste en reducir la cantidad de estos residuos generada durante el tratamiento de las aguas residuales.

Como se comentó anteriormente, dos son los puntos de generación de fangos en un EDAR: el tratamiento primario y el sistema biológico para la eliminación de la materia orgánica disuelta y coloidal. La reducción de los fangos primarios resulta realmente compleja ya que están constituidos por la materia orgánica decantable y los sólidos inertes que acompañan las aguas residuales. Para su minimización habría que actuar sobre la red de alcantarillado llegando incluso a modificar ciertos hábitos sociales. No ocurre lo mismo con los lodos en exceso generados en el tratamiento biológico de las aguas residuales. En efecto, son varias las estrategias propuestas en la bibliografía que permiten, *a priori*, reducir la cantidad de estos fangos residuales. Algunas de ellas se basan en limitar el crecimiento de los microorganismos presentes en los reactores, otras consisten en la solubilización de la materia orgánica refractaria presente en las aguas residuales, otras en la desintegración de los fangos mediante métodos físicos, etc.

Independientemente de la estrategia finalmente seleccionada para minimizar la producción de fangos en exceso, éstas deben cumplir al menos las siguientes premisas:

- Debe reducir la generación de los fangos en exceso a un coste viable.
- No debe producir una reducción de la calidad del efluente obtenido, es decir, no producir un descenso en el rendimiento del proceso depurativo.
- No debe tener un impacto ambiental negativo.

A continuación, se exponen las distintas estrategias para minimizar la producción de fangos descritas en la bibliografía.

II.4.1. Alteración del metabolismo: disociación de las rutas catabólicas y anabólicas

El crecimiento microbiano en un sistema de lodos activos es directamente proporcional a la cantidad de energía obtenida a través de las rutas catabólicas (Lehninger A.L., 1975; Bitton G., 1994). Bajo condiciones normales, el catabolismo de los microorganismos está acoplado con el anabolismo, y la energía obtenida a través de las rutas catabólicas se emplea en los procesos de síntesis y mantenimiento celular (Strand S.E. *et al.*, 1999). La transferencia de energía en todos estos procesos se realiza en forma de ATP que es considerada la moneda energética celular.

Teóricamente unos 3000 μmol de ATP son requeridos para la construcción de 100 mg células (en materia seca). No obstante, en el año 1973, Stouthamer comprobó que las tasas de

crecimiento calculadas teóricamente en base a la producción de ATP no se ajustaban a las observadas. Algunos autores han atribuido ese desajuste a que parte de la energía obtenida mediante las rutas catabólicas se destina al mantenimiento celular. No obstante, Cook y Russel (1994) apuntaron que tales correcciones no explicaban completamente el desajuste energético observado, por lo que debían existir otros mecanismos para la disipación de energía en otras rutas no asociadas ni al crecimiento ni al mantenimiento celular.

Según la **teoría del desacoplamiento del metabolismo** (Low E.W. y Chase H.A., 1999), en determinadas ocasiones, los microorganismos no pueden ajustar el nivel de energía obtenido a través del catabolismo mediante los procesos anabólicos. En tales circunstancias, no toda la energía obtenida a través de las rutas degradativas se emplea en el crecimiento celular. Parte de la energía se pierde en reacciones no asociadas al crecimiento o como calor, y consecuentemente, la producción de fangos en exceso se reduce.

Bajo determinadas condiciones ambientales, como la existencia de ciertos compuestos orgánicos (ionóforos de protones H^+), metales pesados, temperaturas anómalas y/o condiciones alternas de aerobiosis-anaerobiosis, se produce un incremento en la tasa de respiración mayor a la velocidad de consumo de ATP en reacciones de biosíntesis, con el consecuente desajuste del catabolismo y el anabolismo (Tsai S.P y Lee Y.H., 1990; Cabrero A. *et al.*, 1998; Mayhew M. y Stephenson T., 1998; Liu Y., 2000). En estos casos, la tasa de consumo de sustrato y la generación de energía es mayor a la requerida para el crecimiento y el mantenimiento de las funciones vitales. El resultado final es una reducción de la tasa de crecimiento de los lodos activos, y, consecuentemente, de la cantidad de fango en exceso generado. Por tanto, el control del estado metabólico de los microorganismos, y en concreto, la disociación entre las rutas catabólicas y las anabólicas, se considera un método viable para reducir la producción de fangos en excesos en un sistema biológico de depuración.

Son varias las estrategias basadas en el desacoplamiento entre el catabolismo y el anabolismo que han sido aplicadas satisfactoriamente para reducir la cantidad de fangos en exceso, principalmente en el sistema de lodos activos. Estas estrategias pueden suponer la adición de compuestos químicos, la alteración de las condiciones ambientales o la modificación del esquema convencional del sistema de lodos activos. A continuación, se describen algunas de ellas:

Empleo de desacopladores metabólicos

Está demostrado que, para la mayor parte de las bacterias aerobias, el ATP se genera mediante el proceso de fosforilación oxidativa, en el cual los electrones son transportados a través de la cadena transportadora de electrones desde un donador (sustrato) hasta un aceptor final de electrones, en este caso el O_2 . La alteración o inhibición del complejo enzimático que participa en esta cadena respiratoria supone la no síntesis de nuevas moléculas de ATP y, por lo tanto, la

disipación de energía en la célula. Se han descrito seis mecanismos de inhibición de la fosforilación oxidativa y la generación de ATP:

1. Inhibición de los complejos multiproteicos presentes en las membranas, mediante sustancias que impiden el bombeo de protones. Sin gradiente de protones, no hay síntesis de ATP. Entre los compuestos que pueden causar este efecto se encuentran: la rotenona (toxina de una planta, inhibe el complejo I), el amital (barbitúrico, inhibe al complejo I afectando las oxidaciones dependientes del NAD^+), la antimicina A (antibiótico, actúa a inhibiendo el complejo III anulando la reoxidación del NADH y del FADH_2) y el cianuro (bloquea el paso de electrones del citocromo a_3 al oxígeno).
2. Inhibición de la actividad de la ATP-sintasa. La oligomicina, un antibiótico producido por *Streptomyces*, inhibe a la ATPasa al unirse a la subunidad F_o e interferir en el transporte de H^+ a través de F_o , impidiendo por lo tanto la síntesis de ATP. En estas condiciones el gradiente de protones que se produce es mayor que lo normal, sin embargo la energía potencial de éste no puede ser utilizada para producir ATP.
3. Sustancias que hacen permeable la membrana mitocondrial interna a los protones. Estos agentes eliminan la relación obligada entre la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa que se observa en una mitocondria intacta o en la membrana celular de un organismo procariota. Entre las sustancias capaces de producir este efecto se encuentran el 2,4 dinitrofenol (DNP), el carbonilcianuro-p-trifluorometoxi-hidrazona (FCCP) y el carbonilcianuro-m-clorofenilhidrazona (CCCP). Estos compuestos que desacoplan la fosforilación oxidativa de la cadena respiratoria, se conocen como *agentes desacopladores*.

Son compuestos liposolubles y ácidos débiles. Las formas disociadas presentan carga negativa altamente deslocalizada, de modo que el campo eléctrico de los aniones es muy débil, ello permite que difundan libremente a través de un medio no polar como las membranas fosfolípicas. Este comportamiento no es usual, la gran mayoría de iones con carga son excluidos de un ambiente no polar.

La forma protonada, sin carga eléctrica de estos compuestos, pasa a través de la membrana interna mitocondrial intacta, descargando así el gradiente de pH. En la matriz, a pH más bajo, el ácido débil se disocia, la forma disociada pasa la membrana interna, destruyendo el potencial de membrana. Este proceso se puede repetir, de modo que una pequeña cantidad del agente desacoplante puede catalizar el paso de una cantidad enorme de protones y hacer un corto circuito en la cadena respiratoria.

En resumen, permitiendo el paso de protones a través de la membrana, se disipa el gradiente de protones, no hay bombeo de protones a través de la ATP-sintasa y, consecuentemente, no se produce ATP.

Los agentes desacopladores son todos sintéticos.

4. Inhibición del transporte (atractalósido) que impiden la salida del ATP o la entrada de material combustible a través de la membrana mitocondrial interna.
5. Sustancias que permiten el paso a través de la membrana a compuestos que normalmente están impedidos. Son llamados ionóforos (valinomicina, nigericina).
6. Inhibición de enzimas del ciclo de Krebs (arsenito).

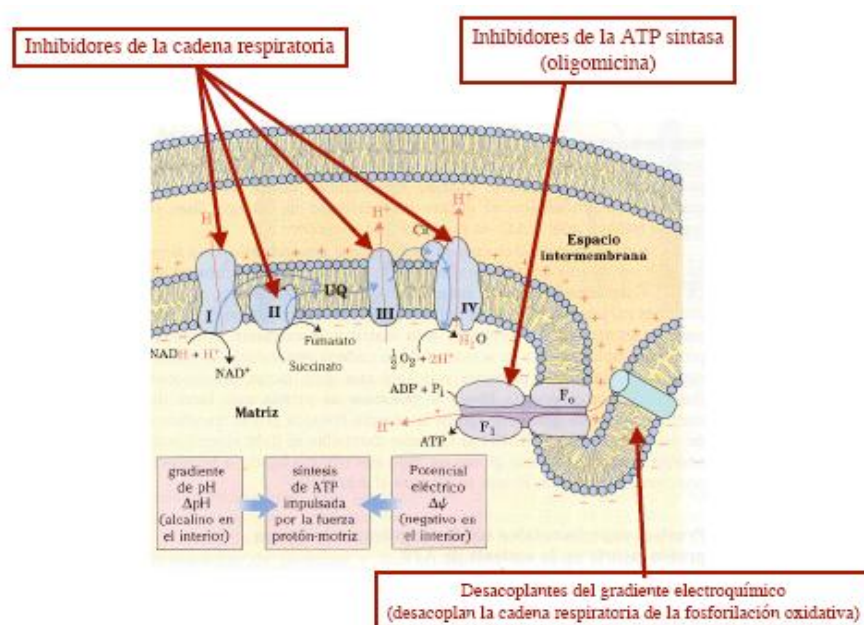


Figura II.22. Mecanismos de inhibición de la cadena transportadora de electrones y la generación de ATP

Los mecanismos quimiosmóticos de la fosforilación oxidativa pueden ser desajustados mediante el empleo de compuestos orgánicos protonóforos, como el 2,4-dinitrofenol (*d*NP), el *para*-nitrofenol (*p*NP), el pentaclorofenol y el 3,3',4',5-tetraclorosalicilánilida (TSC), entre otros. En presencia de estos compuestos, la mayor parte de la materia orgánica se oxida preferentemente hasta dióxido de carbono no empleándose en la síntesis de nuevo material celular.

Ensayos a escala de laboratorio realizados por Low *et al.* (2000) mostraron un descenso del 49% en la producción de fangos tras la adición del *p*NP. Incluso se consiguió anular la producción de estos fangos al aumentar la concentración de dicho compuesto hasta 120 mg/l (Low E.W. y Chase H.A., 1998).

Ciertos metales pesados, como el cobre o el zinc, también son capaces de producir el desacoplamiento metabólico, potenciando el catabolismo sobre el anabolismo (Jefferson B. *et al.*, 2001).

Al acelerar los procesos de oxidación y obtención de energía, la demanda de oxígeno aumenta en el reactor. De hecho, una disociación satisfactoria entre las rutas catabólicas y anabólicas puede identificarse mediante un incremento de la actividad respiratoria (Mayhew M. y Stephenson T., 1998). Esta puede ser una de las desventajas de la aplicación de esta estrategia en un sistema de fangos activos aunque el ahorro en la gestión de los fangos residuales podría ser mayor al aumento en la aireación del sistema.

Otro de los problemas asociados a la adición de estos agentes desacopladores es su ecotoxicidad. Existe un riesgo elevado de que parte de los desacopladores suministrados al sistema no sea metabolizado completamente por los microorganismos presentes en el medio y escapen junto al efluente final del sistema llegando al cauce receptor. Por ello, la aplicación de estos compuestos desacopladores debe realizarse con extremo cuidado y es esencial el establecimiento de las dosis óptimas de aplicación y sus efectos a largo plazo sobre el sistema lodos activos.

Proceso oxic-settling-anaerobic (OSA)

Su traducción literal al español es *proceso óxico-decantación-anaerobio*. Esta estrategia consiste en la introducción de una cámara de retención anóxica en la línea de recirculación de fangos.

El fundamento teórico de esta estrategia se basa en el consumo de las reservas de ATP por parte de los microorganismos presentes en el fango que se produce bajo las condiciones de ausencia de oxígeno y sin adición de sustrato orgánico impuestas en la cámara de retención, a fin de obtener la energía necesaria para el mantenimiento de sus funciones básicas. Una vez los microorganismos retornan al tanque de aireación, se encuentran con un medio rico en materia orgánica y comienzan su degradación. La energía obtenida de las rutas catabólicas se emplea, primeramente, en crear nuevas reservas energéticas necesarias para iniciar la síntesis de nuevo material celular las cuales habían sido agotadas en la fase de anoxia. Antes de que se inicien las rutas de biosíntesis, el fango es nuevamente sometido a una fase de anoxia, y las reservas son nuevamente consumidas sin haber sido empleadas en la construcción de nuevo material celular. Como resultado, se anulan (minimizan) las rutas anabólicas y se fomentan las rutas de degradación de la materia orgánica y obtención de energía, produciéndose la disociación metabólica. Esta es la hipótesis defendida, entre otros autores, por Chudoba *et al.* (1992 a). No obstante, existen otras teorías que permiten igualmente explicar la reducción de la producción de fangos en exceso en el proceso OSA y que se enumeran a continuación:

- Las condiciones de anoxia del tanque de retención favorece el dominio de microorganismos de lento crecimiento en la comunidad microbiana que podría resultar igualmente en una baja tasa de crecimiento neto, $Y_{x/s}$, del fango activo (Low E.W. y Chase H.A., 1999).
- Bajo esas condiciones se pueden originar metabolitos solubles que pueden ser tóxicos para los microorganismos, provocando un uso extensivo de energía para regular/reestablecer la actividad metabólica y, por tanto, limitando el crecimiento bacteriano.
- El decaimiento del fango puede estar acelerado en el tanque de retención, debido principalmente a la depredación por parte de organismos superiores.

Independientemente de las hipótesis planteadas para fundamentar esta estrategia, se ha comprobado que uno de los parámetros que influye directamente en la limitación de la producción de fangos en exceso en el proceso OSA es el potencial de oxidación-reducción alcanzado en la cámara anóxica. Un potencial bajo favorece la reducción de fangos. Saby S. *et al.* (2003) comprobaron que cuando el potencial redox se mantenía entorno a -250 mV, los fangos en exceso se podían reducir un 38% en comparación con la producción obtenida bajo un potencial de +100 mV y un 58% con respecto al sistema convencional de lodos activos.

En este punto es necesario aclarar que esta zona “anaerobia/anóxica” es diferente de las que se incorporan en los procesos biológicos para la eliminación de nutrientes en términos tanto de nivel de sustrato orgánico como de la concentración del fango. Tal y como establecen Chen G-H. *et al.* (2003), mientras que en el proceso OSA el tanque de retención anóxico apenas recibe materia orgánica pues ésta ha sido eliminada en el decantador secundario, en el esquema de tratamiento para la eliminación de nutrientes es necesario garantizar un aporte de sustrato carbonoso para mantener una adecuada relación C/N en el reactor anóxico y de esta forma favorecer las reacciones de desnitrificación. De hecho, la cámara anóxica suele situarse en primer lugar en un reactor biológico compartimentado. Asimismo, el tanque anóxico del esquema OSA recibe un fango espesado procedente del decantador secundario, lo que se traduce en que una mayor proporción de fangos están expuestos a las condiciones de ausencia de oxígeno en comparación con la observada en la cámara de desnitrificación.

Esta alternativa de tratamiento puede constituir una alternativa de bajo coste al tratamiento de los lodos de depuradora porque solo se requiere la incorporación de un tanque de retención con un tamaño razonable en la línea de recirculación de fangos, ya que las bombas existentes pueden hacer retornar el fango a través de esta cámara. Asimismo, esta estrategia no requiere ni tratamientos físicos ni la adición de químicos.

Empleo de oxígeno puro

El empleo de oxígeno puro en los sistemas de lodos activos puede reducir la cantidad de fango residual generado aunque el fenómeno que lo produce no está del todo esclarecido. Tanto la hidrofobicidad de la superficie celular, como la actividad microbiana y la producción de exopolímeros están relacionadas con los niveles de oxígeno disuelto en el reactor (Roques H. *et al.*, 1984).

El oxígeno disuelto puede tener cierta influencia sobre el metabolismo microbiano, determinando el flujo de carbono entre las rutas anabólicas y las catabólicas. Esta es una de las líneas de investigación que menos resultados ha reportado. Entre otros aspectos, el coste elevado asociado al empleo de oxígeno puro puede ser una de las causas de esta situación.

II.4.2. Control de la edad del fango y el tiempo hidráulico de residencia (THR).

En un sistema en estado estacionario, el tiempo de retención del fango es inversamente proporcional a la tasa específica de crecimiento. En 1976, Stall T.R. y Sherrad J.H., obtuvieron un descenso del 60% del fango en exceso producido al incrementar el tiempo de retención de 2 a 18 días, no observándose efecto sobre la eficacia de eliminación de materia orgánica. Esta reducción en la producción de fangos en exceso puede estar motivada por la presencia en el reactor de organismos superiores favorecida por el alto grado de madurez del fango. El control de las poblaciones microbianas en el sistema de lodos activos es otra de las estrategias para la reducción de fangos en exceso que en la actualidad está siendo investigada. En un apartado posterior se desarrollará esta estrategia.

No sólo a través del tiempo de retención de fangos en el sistema de lodos activos es posible reducir la producción de fangos en exceso. Al aumentar los tiempos hidráulicos de residencia, la tasa de crecimiento del fango activo se reduce y, por tanto, la producción de fangos en exceso disminuye. El proceso de lodos activos bajo la modalidad de aireación prolongada opera en la fase de respiración endógena de la curva de crecimiento bacteriano, para lo cual requiere de una baja carga orgánica aplicada al sistema y un largo periodo de aireación. Bajo estas condiciones la tasa de crecimiento observado es de 0,30-0,35 KgSVS /kg DBO₅ consumida mientras que para un sistema convencional de lodos activos este parámetro se encuentra en el rango 0,45-0,55 KgSVS /kg DBO₅.

II.4.3. Solubilización del fango y crecimiento críptico (*lysis-cryptic growth*)

Esta estrategia consiste en someter al fango a una fase de lisis celular y posterior biodegradación del material citoplasmático. Tras la lisis, el contenido citoplasmático (enzimas,

exopolímeros, sustrato orgánico, etc.) es vertido al medio constituyendo un aporte autóctono a la carga orgánica aplicada al sistema. Esta materia orgánica citoplasmática es consumida por los microorganismos del tanque de aireación y una parte del carbono orgánico se libera como producto de la respiración celular (CO_2), resultando así una reducción global de la producción de biomasa. El crecimiento de biomasa resultante de la degradación de este sustrato autóctono no se puede distinguir del correspondiente a la metabolización de la materia orgánica que acompaña a las aguas residuales. Por este motivo a este proceso se le denomina “crecimiento críptico” (Mason CA. *et al.*, 1986).

Varios métodos se han aplicado en la desintegración, lisis y solubilización del fango:

- El tratamiento térmico en un rango de temperaturas entre 40°C a 180°C (Kepp U. *et al.*, 1999, Barjenbruch M. *et al.*, 1999),
- El ataque químico con ácidos o bases (Tanaka S. *et al.*, 1997),
- La desintegración mecánica mediante ultrasonidos, molinos y homogeneizadores (Baier U. y Schmidheiny P., 1997.; Kopp J. *et al.*, 1997; Camacho P. *et al.*, 2002; Nolasco M.A. *et al.*, 2002; Tiehm A. *et al.*, 1997; Tiehm A. *et al.*, 2001; Chu C.P. *et al.*, 2001; Onyeché T.I. *et al.*, 2002)
- Los procesos de congelación-descongelación (Chu C.P. *et al.*, 1999),
- Los procesos de oxidación avanzada como la oxidación húmeda, aplicación de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o la aplicación de ozono (Weemaes M., *et al.*, 2000; Neyens E. *et al.*, 2003a),
- La hidrólisis biológica mediante la aplicación de enzimas hidrolíticas, (Guellil A. *et al.*, 2001).

Asimismo se han aplicado distintas combinaciones de estos procesos. Por ejemplo, el tratamiento térmico-químico (Saiki Y., *et al.*, 1999; Neyens E. *et al.* 2003b; Neyens E. *et al.* 2003c) o la combinación de tratamiento alcalino y ozono (Chiu YC. *et al.*, 1997).

Parte de la reducción en la producción de fangos es debida a la solubilización de la materia orgánica particulada y coloidal que acompaña a las aguas residuales y que constituye la fracción no fácilmente biodegradable de la carga orgánica aplicada a los sistemas biológicos de depuración. Estos contaminantes son mucho más difíciles de degradar que la materia orgánica disuelta por lo que suelen ser separados de la corriente de agua bien en el tratamiento primario o bien atrapados en los flóculos microbianos formando parte de los fangos eliminados del sistema de tratamiento.

La solubilización de los fangos implica igualmente la solubilización de la materia orgánica particulada y coloidal. De esta forma, estos contaminantes pueden atravesar la membrana

citoplasmática y ser incorporados a las rutas metabólicas intracelulares para ser oxidados hasta CO_2 y H_2O , no formando parte del fango en exceso purgado del sistema.

Mediante el tratamiento térmico de los fangos, se ha llegado a reducir la producción de fangos en exceso en un 60%. La combinación de dicho tratamiento y la aplicación de NaOH (pH 10, 60°C durante 20 minutos) ha permitido reducir en un 37% la producción de fangos en exceso (Rocher M. *et al.*, 1999 y 2001).

Kamiya T. y Hirotsuji J. (1998) consiguieron reducir la producción de fangos en un 50% al aplicar una dosis diaria de 10 mg O_3 /g SSLM, llegando incluso a anular la purga de fangos al duplicar la dosis de ozono. Además, como efecto secundario se observó un aumento de la capacidad de sedimentación del fango.

II.4.4. Control de las comunidades de microorganismos en el sistema de fangos activos

Un sistema biológico de tratamiento de las aguas puede ser considerado un ecosistema artificial. La materia y la energía se transfieren del sustrato a las bacterias, y después a los protozoos y metazoos. Los sustratos, bacterias, protozoos y metazoos están conectados a través de la cadena alimenticia. La materia y la energía se disipan a medida que fluyen a través de la cadena alimenticia y, por lo tanto, la depredación de bacterias por parte de la micro-fauna (protozoos y metazoos) existentes en el fango activo puede resultar finalmente en una reducción del fango en exceso generado en el sistema. En efecto, en la conversión de materia orgánica a biomasa de bacterias y de bacterias a biomasa de depredaciones ocurre una pérdida de energía, debido a que esta conversión no es eficiente al 100% (Ratsak C.H., 1994).

Las mejores condiciones para obtener una producción de fangos baja son aquellas en las que la eficiencia de conversión de biomasa durante el proceso de depredación es la menor posible, obteniendo una baja producción de biomasa de depredadores a igual biomasa ingerida de presas (Mas M. y Vasco J., 2008).

De entre los diversos organismos presentes en el fango activo depredadores de bacterias, los protozoos filtradores son el grupo más abundante. Se ha descrito que los protozoos ciliados son esenciales para conseguir una buena calidad del efluente en un proceso de tratamiento de aguas residuales debido a su capacidad de depredación sobre las bacterias, además de estimular la floculación (Curds C.R., 1969). De hecho, la presencia de organismos filtradores en el medio garantiza un efluente con baja turbidez.

La tasa de ingestión de los ciliados depende de dos factores (Curds C.R. y Cockburn A., 1968): la disponibilidad y concentración de alimento. En este sentido, se ha comprobado que una sola especie de metazoo, sin competencia interespecífica por el alimento, es capaz de reducir la producción de fangos en un 80%, mientras que en una comunidad estructurada, con competencia interespecífica por el alimento, este porcentaje se reduce a un 30%. También se ha calculado que un ciliado, en condiciones estándar, puede transformar el 50% de la biomasa

ingerida a biomasa individual, mientras que para una gran metazoo este valor se encuentra alrededor del 10%.

Para una concentración de fangos de 1.500 mg/l y una comunidad de ciliados de 10.000 individuo/ml es posible reducir la producción de fangos entre 1 y un 20% (Mas M. y Vasco J., 2008). La variación en el porcentaje de reducción es debida a la cantidad de bacterias dispersas en el medio, ya que, a mayor concentración de bacteria dispersas mayor es la reducción en la producción de fangos. Por tanto, en sistemas con alto grado de aglomeración de bacterias la reducción de fangos debida a la depredación por parte de organismos ciliados deja de ser significativa.

En la actualidad, muchas de las investigaciones relativas a la reducción de fangos en exceso mediante control biológico, se centran en el papel de los metazoos, concretamente, los gusanos o lombrices. Estos organismos se alimentan directamente de flóculos, aunque también ingieren parte de las bacterias dispersas. Los tipos de gusanos que pueden encontrarse en el sistema de lodos activos y lechos bacterianos son *Aelosomatidae*, *Naididae*, *Pristina*, *Dero* y *Tubificidae* (Rastak C.H. *et al.*, 1996; Wei Y.S. *et al.*, 2003). Los más comunes en el sistema de lodos activos son *Aelosomatidae* y *Naidida*.

Algunos autores han encontrado que la presencia de estos gusanos en el fango activo no ha contribuido ni a la reducción de los fangos en exceso ni a la mejora de la sedimentabilidad del fango (Song B. y Chen X., 2009). Esto es debido a que los sistemas de fangos activos convencionales están diseñados para el tratamiento de las aguas residuales y las condiciones de operación no favorecen el crecimiento masivo de estos gusanos. La producción de fangos en exceso no se ve alterada cuando los gusanos se presentan en bajas concentraciones. Por tanto, si se quiere emplear este tipo de organismos como limitantes de la producción de fangos es necesario desarrollar reactores específicos para su crecimiento (Elissen H.J.H. *et al.*, 2006; Wei Y. *et al.*, 2008). No obstante, para conseguir altas tasas de reducción en la generación de fangos en exceso es necesario que el crecimiento de estos organismos sea estable lo cual resulta complicado incluso en condiciones controladas (Rastak C.H., 2001; Salvado H. *et al.*, 2004).

Existen dos maneras de influir en la proliferación de depredadores: modificando el tiempo de retención celular (TRC) o cambiando el suministro de alimento. Incrementando el TRC se potencia el crecimiento de los protozoos con una baja tasa de crecimiento, los cuales se caracterizan por presentar una elevada eficiencia en la transformación de materia orgánica. Además, a medida que el TRC aumenta, el número de transformaciones de biomasa también incrementa, lo que se traduce en un incremento de biomasa perdida en términos de energía. En cambio, disminuyendo el TRC se incrementa la proliferación de pequeños protozoos, que se caracterizan por presentar elevadas tasas de crecimiento y bajas eficiencias en la transformación de materia orgánica, aumentándose la biomasa que se disipa en forma de energía.

La producción de fangos disminuye a medida que se incrementa el TRC (Saunamäki R., 1988; Henze M. *et al.*, 1987). Según Ghyyoot W. y Verstraete W. (1999), los mejores resultados en reducción de la producción de fangos los obtuvieron operando a 102 días de TRC. Una manera

de incrementar el TRC es implantando un sistema con biopelícula. En este sentido, Lee N.M. y Welander T. (1996) trabajaron con sistemas de biopelícula fija sumergida y con lechos móviles para minimizar la producción de fangos, obteniendo los mejores resultados con el sistema de biopelícula fija.

Para cambiar el alimento suministrado a un reactor aerobio se han realizado experimentos donde se coloca un tanque previo al reactor aerobio que potencie el crecimiento de bacterias dispersas (etapa bacteriana). Ratsak (1994) describe que un suministro extra de bacterias dispersas en un proceso convencional de tratamiento de aguas residuales, potencia la capacidad de depredación de los protozoos y esto contribuye a una reducción de la producción de fangos.

Ghyoot W. y Verstraete W. (1999) estudiaron diferentes TRH (tiempos de retención hidráulicos) para el tanque de la etapa bacteriana. Demostraron que a mayor TRH, menor era el factor de producción de fangos del sistema. También observaron que los valores de baja producción de fangos estaban relacionados con elevadas abundancias de protozoos flagelados y ciliados bacteriófagos, siendo estos últimos especialmente abundantes en los sistemas de biopelícula. Concluyeron que estos grupos eran causantes de los valores bajos de producción de fangos.

Por su parte, Lee N.M y Welander T. (1996) observaron que los protozoos y metazoos dominantes en la segunda etapa de su sistema experimental (posterior a una etapa bacteriana) consumieron más biomasa que los depredadores del sistema sin etapa bacteriana previa.

El control de las poblaciones microbianas y, concretamente, la relación depredador-presa en los fangos activos se vislumbra como una técnica viable para minimizar la producción de fangos en exceso, ya que presentan un bajo requerimiento energético y no existe riesgo de contaminación secundaria al no existir adición de compuestos químicos (Rensink J.H. y Rulkens W.H., 1997; Salvado H. *et al.*, 1995).

Todas estas estrategias de minimización presentan *pros* y *contras*: algunas pueden ser caras en inversión, otras pueden complicar en exceso la operación y mantenimiento de las unidades de depuración, y no todas pueden ser aplicables en todos los casos. No obstante, las tasas de reducción en la producción de fangos residuales pueden ser elevadas y suponen un importante ahorro en la gestión y tratamiento de estos residuos.

Capítulo III.

Metodología y Plan de Trabajo

En este capítulo se describe el plan de trabajo ideado para alcanzar el objetivo principal de la presente tesis doctoral, así como los equipos empleados y las distintas técnicas analíticas aplicadas.

Tal y como se comentó en el capítulo de Introducción, el objetivo general de este trabajo es aplicar diferentes estrategias para reducir la cantidad de fangos que se producen en un sistema biológico de depuración, concretamente el sistema de lodos activos y, de esta forma, disminuir los costes de explotación asociados a la gestión de estos fangos residuales. Para ello, y como ya se comentó en el capítulo II de Antecedentes Bibliográficos de la memoria, son varias las estrategias que han sido desarrolladas en trabajos científicos previos, si bien, en la mayor parte de los casos, han sido aplicadas en reactores en discontinuo sin llegar a estudiar el efecto de las mismas sobre el comportamiento del sistema de lodos activos a medio- largo plazo.

Tendiendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se han aplicado alguna de las estrategias de reducción de fangos en exceso en un sistema de lodos activos a escala de laboratorio y se ha analizado el comportamiento del mismo a lo largo del tiempo. De este modo se pretende evitar efectos no deseados (pérdida de capacidad de sedimentación de fangos, bajos rendimientos de eliminación de materia orgánica, pérdida de diversidad biológica de los fangos, etc.) a medio- largo plazo, no descritos en los trabajos anteriores.

Para alcanzar el objetivo general del estudio se plantearon una serie de objetivos parciales. La consecución de los mismos se ha conseguido mediante el desarrollo de un plan experimental estructurado en varias etapas.

- *Objetivo 1:* Realizar un “estado del arte” sobre las estrategias aplicadas para reducir la cantidad de fangos en exceso en los sistemas de lodos activos y que han sido descritas en la bibliografía científica

Este primer objetivo no llevó asociado ningún desarrollo experimental. El análisis de la información recopilada permitió seleccionar las estrategias para reducir la producción de fangos en exceso a estudiar en este trabajo de investigación. Dicha selección se realizó en base a los resultados previos obtenidos por otros autores, la disponibilidad del material adecuado para su aplicación a nivel de laboratorio y la idoneidad de las estrategias en el contexto de la Bahía de Cádiz. Las estrategias seleccionadas fueron: el empleo de desacopladores metabólicos, el

proceso OSA y la solubilización del fango a través de enzimas extracelulares generadas en la digestión aerobia de los mismos.

- *Objetivo 2:* Puesta en marcha de una unidad de lodos activos a escala de laboratorio y estudio de la generación de fangos bajo diferentes condiciones de operación, evaluando al mismo tiempo el funcionamiento del sistema así como las diferentes poblaciones microbianas desarrolladas en cada una de ellas.

Para la consecución de este objetivo se desarrollaron las siguientes etapas experimentales:

- Etapa I: Optimización de las condiciones de operación de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio.
- Etapa II: Influencia del tiempo hidráulico de residencia en la producción de fangos en exceso en un sistema de lodos activos a escala de laboratorio.
- *Objetivo 3:* Aplicación de las estrategias para la minimización de la producción de fangos en el sistema de lodos activos a escala de laboratorio evaluando la producción de fangos residuales y analizando la población microbiana presente en el reactor en las distintas estrategias adoptadas.

Este objetivo, parte central del presente estudio, se estructuró en tres fases:

- Etapa III: Aplicación de compuestos químicos para reducir la producción de fangos en exceso.
 - A. Ensayos en modo *batch* para seleccionar el compuesto químico a aplicar en un sistema de lodos activos a escala piloto. Obtención de la dosis óptima.
 - B. Análisis del comportamiento de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio ante la adición en continuo de un compuesto químico que permite reducir la cantidad de fangos residuales.
- Etapa IV: Aplicación del proceso OSA: *oxic-settling-anaerobic* en una planta piloto de lodos activos para reducir la cantidad de fangos en exceso producidos (ensayo a escala de planta piloto de laboratorio).
- Etapa V: La solubilización del fango y de la materia orgánica particulada y coloidal mediante enzimas extracelulares procedentes de un digestor aerobio de fangos para reducir la producción de fangos en exceso (ensayo a escala de planta piloto de laboratorio).
- *Objetivo 4:* Comparación de los resultados obtenidos incluyendo aspectos económicos, técnicos y ambientales. Propuesta de una estrategia viable para su aplicación a una unidad de lodos activos a escala piloto (semi-industrial).

Para alcanzar este último objetivo se realizó un estudio económico sobre el posible ahorro en la gestión de los fangos en una instalación de tratamiento de aguas residuales derivada de la aplicación de cada una de las estrategias estudiadas. A este análisis se incorporaron, igualmente, aspectos ambientales y técnicos que permitieron realizar una propuesta final sobre la estrategia más idónea. El resultado de este análisis se recoge en el capítulo IV de Resultados y Discusión de la presente memoria de tesis doctoral.

Todas las etapas experimentales del presente estudio tuvieron tres elementos comunes:

- La planta depuradora de la que se tomó el fango empleado como inóculo del sistema de lodos activos en cada una de las experiencias desarrolladas, si bien durante la fase de puesta en marcha se probaron distintos inóculos procedentes de varias EDAR de la Bahía de Cádiz.
- La planta piloto a escala de laboratorio en la que se realizaron los ensayos, a excepción de los ensayos preliminares de la etapa 3 de estudio que se llevaron a cabo en reactores discontinuos.
- Los parámetros de control y seguimiento de la unidad de lodos activos y los ensayos propuestos para la determinación de la tasa de crecimiento bacteriano.

A continuación se describen cada uno de estos elementos. En aquellas fases en las que se empleó algún parámetro, método, equipo o algún otro elemento diferenciador se describe detalladamente en el capítulo correspondiente.

III.1. La Estación de Tratamiento de Aguas Residuales “El Trocadero”.

Características principales.

El fango empleado como inóculo del sistema de lodos activos a escala de laboratorio se obtuvo del tanque de aireación de la unidad de lodos activos de la Estación Depuradora de Aguas Residuales “El Trocadero” sita en el municipio de Puerto Real (Cádiz), concretamente en el polígono del Río San Pedro. Por ello, en este apartado se describen brevemente algunas de las características de esta estación de tratamiento.

La mencionada estación recibe, además de las aguas urbanas procedentes de la población de Puerto Real, las aguas residuales procedentes del polígono industrial “El Trocadero” de este núcleo urbano. Entre las industrias asentadas en esta área se encontraba Delphi (General Motos) cuyos vertidos se unían a las aguas residuales urbanas generando un influente de carácter mixto urbano-industrial. A estas fuentes de aguas residuales se sumaban las aguas generadas por el Campus Universitario de Puerto Real.

Las características medias del efluente fueron las siguientes (según datos aportados por la empresa gestora de la EDAR):

▪ Caudal Medio	700 m ³ /h
▪ Caudal diario	16.800 m ³ /día
▪ Caudal máximo	1.155 m ³ /h
▪ DBO ₅ : carga diaria	4.035 Kg
▪ ST: carga diaria	5.535 Kg

En esta estación depuradora, el sistema de tratamiento de las aguas residuales está constituido por las siguientes unidades:

- pretratamiento,
- decantación primaria,
- tratamiento biológico (sistemas de fangos activos): agitación por turbinas
- decantación secundaria

La Figura III.1 muestra el diagrama de flujo de la EDAR “El Trocadero” que incluye las unidades que constituyen la línea de aguas.

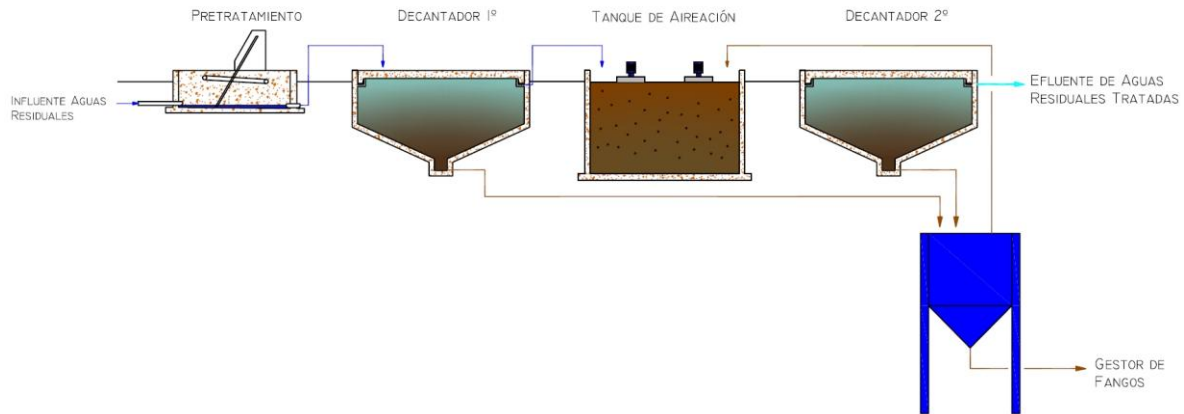


Figura III.1 Diagrama de flujo EDAR “El Trocadero”

A continuación se describen, de forma breve, cada una de estas unidades:

- *Pretratamiento:* unidad donde se produce la separación de sólidos mediante un sistema de rejillas de desbaste de gruesos y finos. El desarenado y desemulsión de las grasas se realiza a través de una cámara de preaireación.
- *Tratamiento Primario:* Una vez eliminados los gruesos de mayor tamaño y las arenas y grasas que acompañan a las aguas residuales, el efluente se distribuye a dos decantadores primarios donde se eliminan las partículas decantables.
- *Tratamiento Biológico- Sistema de lodos activos:* Unidad principal de la planta. La aireación se lleva a cabo mediante 8 turbinas superficiales en dos tanques de aireación cuyos volúmenes son de 2.904 m³ cada uno.
- *Decantación Secundaria- Sistema de lodos activos:* El agua recogida en un canal de participación se distribuye a las dos unidades de decantación secundaria. Cada unidad consiste en un decantador circular de 24 metros de diámetro y 1.057 m³ de volumen. Parte de los lodos retirados en el decantador secundario son recirculados a las cubas de aireación para mantener la población de microorganismos en dichos reactores.

101

La EDAR “El Trocadero” no dispone de línea de tratamiento de fangos, por lo que los fangos residuales purgados del decantador secundario son retirados por una empresa autorizada para la gestión de estos productos.

Durante el periodo en el que se desarrolló el presente trabajo de investigación, el tiempo hidráulico de residencia en la cuba de aireación se mantuvo en el rango de 8-11 horas, por encima de un sistema de lodos activos convencional (5 horas), pero sin llegar a las condiciones de la aireación prolongada. La oxigenación se estableció en torno a 1 mg/l en las cubas de aireación para, de esta forma, controlar las poblaciones de filamentosas que causan problemas

de espumas. El caudal más homogéneo se obtenía a primera hora de la mañana siendo la carga orgánica muy baja (120 mg DBO₅/l, datos estimados). A partir de las 12 y hasta las 19 horas se producían puntas de caudal influente, aumentando la carga orgánica (360 mg DBO₅/l). Desde las 19 horas y hasta las primeras horas de la mañana el caudal influente volvía a ser bastante homogéneo.

Como se comentó anteriormente, esta planta recibía los vertidos realizados por la ya desaparecida fábrica de General Motors de Puerto Real. No obstante estos vertidos estaban muy bien controlados y producían un aumento del caudal de agua influente pero no afectaba, *a priori*, a la carga orgánica. Estos vertidos se realizaban dos veces por semana. No obstante, para evitar complicaciones en la puesta en marcha de la unidad de lodos activos a escala de laboratorio, la toma de las muestras de fangos empleadas como inóculos no se realizó en ningún caso durante las 24 horas siguientes al vertido.

Si bien el objeto de este estudio no es la caracterización de las aguas residuales tratadas en esta estación depuradora, está demostrado que la composición de las mismas así como las unidades de tratamiento a las que son sometidas y las condiciones de operación, determinan el comportamiento y la composición de los fangos activos. Por ello, en el momento de la recolección de los fangos empleados como inóculo de la planta piloto se tomó también muestras integradas del influente y se determinaron los parámetros recogidos en la Tabla III.1.

Tabla III.1. Rango de valores característicos del influente de la EDAR “El Trocadero”

Parámetros	EDAR “El Trocadero”
pH	7-8
Conductividad (μS/cm)	3.100 – 4.000
STS (mg/l)	120 - 230
SVS (mg/l)	100 - 200
DQO (mgO ₂ /l)	650 - 800
DBO ₅ (mgO ₂ /l)	320 - 400
Amonio (mgN-NH ₄ ⁺ /l)	30 – 40
Nitritos (mgNO ₂ ⁻ /l)	< 1
Nitratos (mgNO ₃ ⁻ /l)	2 - 5
N Kjeldahl (mgNH ₃ -N/l)	45 - 60
Fosfatos (mg P-PO ₄ ³⁻ /l)	5,5 - 7
Fósforo total (mgP/l)	6,5 - 8

En función de los valores paramétricos obtenidos, y siguiendo los criterios de clasificación establecidos por Hernández Muñoz (2001) recogidos en la Tabla II.1 del Capítulo II de Antecedentes Bibliográficos, la contaminación del influente de la EDAR “El Trocadero” se puede considerar:

- muy fuerte, para la DBO₅ y nitratos
- fuerte, para la DQO
- media-fuerte, para el amonio
- media, para los STS, SVS, nitrógeno Kjeldahl y fósforo total
- baja, para nitritos

La relación DBO₅/DQO es un índice de la biodegradabilidad de la contaminación orgánica del influente. En la EDAR “El Trocadero” el cociente DBO₅/DQO es de 0,39, indicando una baja biodegradabilidad, siendo este resultado característico de un influente de tipo industrial.

Los elevados datos de conductividad en el influente estuvieron motivados por las intrusiones salinas que sufre la EDAR “El Trocadero”, según la información suministrada por la empresa encargada de la explotación de la estación de tratamiento.

Además de las características analizadas en la Tabla III.1, es necesario comentar que en la EDAR “El Trocadero” se han detectado, puntualmente, algunos metales pesados cuya procedencia es el complejo industrial de Puerto Real, si bien estos metales no han sido determinados en los análisis realizados en el presente trabajo de investigación. Entre los metales detectados se encuentran el hierro, principalmente, y trazas de cromo y manganeso. Esto demuestra el carácter urbano-industrial de las aguas residuales tratadas en esta EDAR.

Otras variables muy importantes que hay que tener en cuenta son las características de los fangos presentes en las cubas de aireación de la EDAR “El Trocadero”. En la tabla III.2 se recogen algunas de éstas.

Tabla III.2. Parámetros medidos en fangos de la cuba de aireación durante el periodo de estudio

Parámetro	EDAR “El Trocadero”
SOUR (mgO ₂ /gSVS·d)	110 - 200
MLSS (g/l)	8 - 9
MLSVS (g/l)	5 – 6
IVF(ml/gSS)	100-150

Destaca el gran contenido en sólidos totales y volátiles que presentó el fango de la cuba de aireación de la EDAR “El Trocadero”. Esto es debido a que, en esta estación de tratamiento, no existe línea de fangos y una importante cantidad de los fangos separados en el decantador secundario se recirculan a las cubas de aireación. A pesar de que existía mucha cantidad de biomasa representada por los sólidos volátiles, el fango presentaba una baja actividad respiratoria (bajos valores de SOUR). Las posibles causas son, por una parte, el ya comentado bajo carácter biodegradable de la contaminación orgánica del influente de la EDAR “El Trocadero” ($DBO_5/DQO = 0,39$) y, por otro lado, la mortandad asociada a los vertidos tóxicos procedentes del complejo industrial “El Trocadero”. Finalmente, el índice volumétrico de fangos obtenido (IVF próximo o superior en algunos casos a 120 ml/gSS) es indicador de una baja capacidad de sedimentación de los fangos de la EDAR.

III.2. Ensayos a escala de planta piloto

III.2.1. Descripción de la planta de lodos activos a escala de laboratorio

El biorreactor utilizado a nivel de planta piloto de laboratorio fue diseñado especialmente para la realización de los mismos, siguiendo las especificaciones del ensayo de simulación de lodos activos del O.C.D.E. n° L 133/106 de 30-5-88 para la determinación de la biodegradabilidad de detergentes aniónicos (Figura III.2).

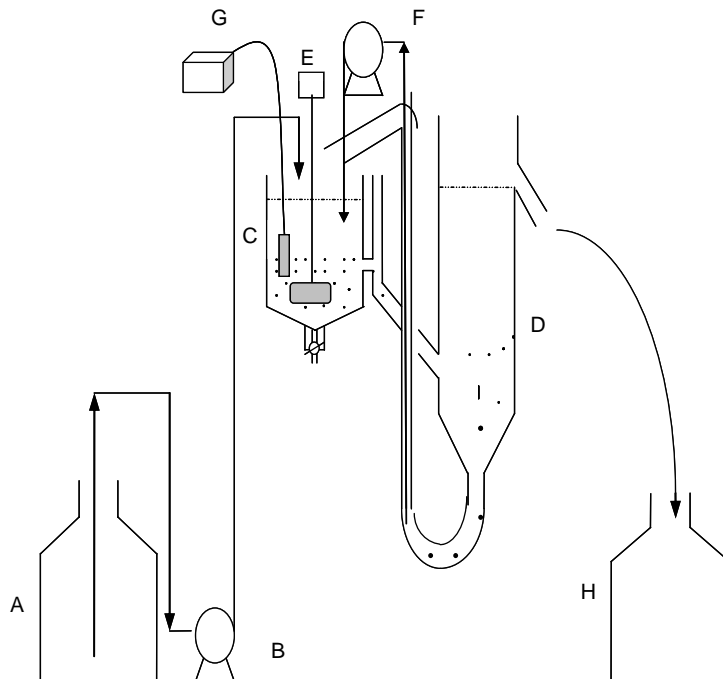


Figura III.2. Planta piloto escala de laboratorio utilizada en la realización de las distintas experiencias

Las diferentes unidades de que consta son:

- Un recipiente de almacenamiento, A, para agua residual sintética.
- Una bomba B de dosificación.
- Un tanque C de aireación.

- Un decantador D provisto de desagüe superior para el agua tratada.
- Un sistema de agitación por palas, E para homogenizar el contenido del tanque de aireación.
- Una bomba F de recirculación de fangos.
- Un compresor G de aire.
- Un recipiente H para recoger el efluente tratado.

Las unidades básicas del sistema son el tanque de aireación y el decantador secundario.

- **Tanque de aireación (C):** El reactor posee forma cilíndrica de 15 cm de diámetro y 30 cm de alto, lo que equivale a una capacidad aproximada de unos 5 litros de los cuales son útiles sólo tres litros y medio.

El reactor está provisto de una abertura inferior a través de la cual se realiza la toma de muestra, además de las purgas de lodos necesarias.

- **Decantador (D):** Posee una altura de 50 cm con un diámetro de 9 cm, con un volumen útil de aproximadamente 2000 ml. Este reactor está provisto de un desagüe por la parte superior que es por donde es evacuada el agua clarificada.

Además de las dos unidades principales cabe destacar los siguientes componentes:

- Los compresores de aire (TAGUS 2000) (G) utilizados para suministrar el oxígeno necesario en el tanque de aireación. Los compresores de aire del tanque de aireación van conectados a difusores de piedra porosa similar a lo empleados en acuarios, los cuales han de limpiarse con regularidad para evitar su obturación.
- Bomba dosificadora MASTERFLEX (B). Es la encargada de impulsar el agua residual sintética de alimentación al sistema. Trabaja en continuo.
- Bomba de recirculación HEIDOLPH de doble cabezal (F). Empleada para recircular los fangos acumulados en el decantador secundario al tanque de aireación.
- Refrigerador (ELECTROLUX). Cuya misión era la de mantener refrigerado el medio nutriente concentrado, evitando de este modo su degradación.

El medio nutriente utilizado para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos en la unidad de lodos activos, corresponde al indicado en el método oficial de biodegradación de tensioactivos en condiciones aerobias (BOE num. 260, pág. 34266), cuya formulación viene descrita en la Tabla III.3

Tabla III.3. Composición de la alimentación sintética empleada en el ensayo

Compuesto	Concentración (mg/l)
Peptona	160
Urea	30
Extracto de Carne	110
Na Cl	7
CaCl ₂ · H ₂ O	4
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	2
K ₂ HPO ₄	28

Todos los reactivos empleados en la formulación del medio sintético son de calidad PRS. Como fuente energética adicional se utilizó glucosa (C₆H₁₂O₆) calidad PRS.

La DQO teórica de esta agua residual es de 500 mgO₂/l y la DBO₅ de 400 mgO₂/l aproximadamente.

Para facilitar la homogeneidad y conservación de la alimentación del sistema de lodos activos, se preparó una disolución madre de agua residual sintética a una concentración de ≈ 50.000 mg/l de DQO. Esta disolución se esterilizó en un autoclave y se conservó en frascos de vidrio de 1 l en un refrigerador a 4°C para evitar su corrupción microbiológica y contaminación. Diariamente se preparó el agua residual de alimentación diluyendo un volumen determinado del agua residual sintética concentrada en agua de grifo hasta una concentración de DQO en torno a 500 mg/l. No obstante, el influente fue analizado para calcular la DQO real.

La planta piloto se mantuvo durante todo el desarrollo de las experiencias a temperatura controlada de 20 ± 2 °C.

III.2.2. Seguimiento y control de la planta piloto.

El procedimiento para la puesta en marcha de la planta de lodos activos se describe en el Capítulo IV de Resultados y Discusión, presentándose en este capítulo el seguimiento realizado sobre el sistema.

El seguimiento y control del sistema de lodos activos se realizó mediante la toma de muestras y análisis de diferentes variables en tres puntos clave: la cuba de aireación, la línea de recirculación y el efluente final del sistema.

Diariamente se tomaban del tanque de aireación unos 235 ml de fangos activos a través del dispositivo de toma de muestra que presenta el reactor de vidrio. Unos 135 ml de esta muestra se empleaban para la determinación de la tasa de respiración (OUR) y la concentración de sólidos totales y volátiles en el reactor (STS_{ta} y SVS_{ta}). Una vez determinados dichos parámetros, la muestra se desechaba. Los restantes 100 ml de fango activado se empleaban para la determinación de la V30 y el pH. Esta parte de la muestra era devuelta nuevamente al tanque de aireación una vez finalizada ambas determinaciones puesto que la muestra no era sometida a ningún tipo de situación estresante. Para la determinación del oxígeno disuelto y la temperatura se empleó directamente un oxímetro sobre la cuba de aireación.

Puntualmente, se realizó un recuento de la biomasa total y activa sobre muestras del fango activo por espectrofotometría de fluorescencia, empleando dos fluorocromos específicos: DAPI (biomasa total) y CTC (biomasa activa). Para finalizar el análisis de los fangos de la cuba de aireación, se realizaba una observación directa a través del microscopio óptico para determinar las poblaciones microbianas dominantes y, de esta forma, evaluar el estado del fango desde el punto de vista microbiológico.

También con una cadencia diaria, se purgaba un volumen determinado de fangos del decantador secundario a través de la línea de recirculación. El volumen purgado dependía de la cantidad de fangos acumulados en el decantador secundario, variando en el rango 45 -100 ml en este estudio, no teniéndose en cuenta la concentración de sólidos en el tanque de aireación. Sobre este volumen de fangos retirados del sistema se determinaron los sólidos totales y volátiles (ST_{pS} y SV_{pS}) y el pH.

Por último, todos los días en los que se muestreaba la planta piloto se procedía a la determinación de la demanda química de oxígeno tanto de la alimentación (DQO_0) como del efluente final (DQO_e), para evaluar el rendimiento depurativo del proceso.

Al finalizar cada una de las etapas en las que se dividieron los ensayos de la presente tesis doctoral, se realizaba un ensayo de en discontinuo para la determinación de la tasa de crecimiento microbiana. Con ellos se pretendía evaluar el efecto de las distintas estrategias para la minimización de fangos residuales sobre la tasa de crecimiento del fango activo.

III.3. Técnicas analíticas utilizadas

El conjunto de técnicas utilizadas en la parte experimental del trabajo se puede agrupar en cinco grandes bloques: (1) parámetros físico-químicos para la caracterización de las aguas residuales tratadas en la EDAR, (2) parámetros físico-químicos relacionados con el control del sistema piloto de lodos activos, (3) técnicas aplicadas al control del sistema a través de medidas de actividad de los microorganismos, (4) parámetros microbiológicos de recuento mediante técnicas de epifluorescencia y observación directa al microscopio óptico, y (5) ensayos discontinuos de cinética de degradación y crecimiento bacteriano.

Los parámetros físico-químicos se han usado tradicionalmente para el control y estudio de las aguas residuales y del rendimiento del sistema, siendo la determinación de los sólidos y la demanda química de oxígeno los más usuales.

La determinación de la actividad de los microorganismos dentro del proceso biológico permite conocer de forma inmediata el efecto de las distintas estrategias para la minimización de la producción de fangos residuales sobre la microbiota de los fangos activos. Esta variable proporciona información sobre el rendimiento del proceso bajo las distintas condiciones y alternativas de operación ensayadas y descartar aquellas que produzcan un descenso pronunciado en la actividad respiratoria de los fangos, que es la determinante del rendimiento del proceso.

109

Las técnicas de recuento bacteriano mediante microscopía de epifluorescencia se aplican complementariamente a las técnicas respirométricas de actividad microbiana para conocer, a nivel microscópico, el efecto de las distintas estrategias de minimización de fangos residuales sobre la actividad de las bacterias. La observación directa al microscopio de los fangos activos permite conocer el estado de la comunidad microbiana presente en el reactor.

Por último, los ensayos de cinética de degradación de un sustrato soluble y de crecimiento bacteriano permiten evaluar el efecto de las distintas estrategias aplicadas en este estudio sobre la tasa de crecimiento y, consecuentemente, sobre la producción de nueva biomasa en el sistema de lodos activos.

III.3.1. Técnicas analíticas para la caracterización de las aguas residuales tratadas en la EDAR “El Trocadero”

Como la caracterización del influente de la EDAR “El Trocadero” no es el objeto principal de esta tesis doctoral, si no un estudio complementario, las técnicas analíticas empleadas se resumen en la Tabla III.4. No obstante, algunas de los parámetros empleados para caracterizar

las aguas residuales es empleado en el control y seguimiento de la unidad de lodos activos a escala de laboratorio.

Tabla III.4. Procedimientos de Análisis de Parámetros Físico-Químicos en las Aguas Residuales de la EDAR

Determinación analítica	Método de análisis	Referencia
Amonio	Método fotométrico	Test de Amonio. Kit de Merck. / Rango de medida: (0.013-3.86 mgNH ₄ ⁺ /l)
Conductividad	Electrometría	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 2510B
DBO	Método manométrico	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 5210 ^a
DQO	Reflujo cerrado. Método colorimétrico	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 5220D
Fosfatos	Método espectrofotométrico del ácido ascórbico	Grasshoff (1983). pp. 125-131
Fósforo total	Método del ácido ascórbico, tras mineralización	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 4500-P E
Nitratos	Método fotométrico	Test de Nitratos. Kit de Merck. / Rango medida: 0.9-88.5 mgNO ₃ ⁻ /l
Nitritos	Método espectrofotométrico	IOC (1983). pp. 36-39
pH	Electrometría	Grasshoff (1983). pp.85-98
Sólidos en suspensión	Filtración con filtros de 0,45 micras y secado a 103-105 °C	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 2540 B
Sólidos volátiles	Filtración con filtros de 0,45 micras y calcinación a 550 °C	APHA <i>et al.</i> (1992). Método 2540 C

Todos estos parámetros se determinaron sobre muestra integrada facilitada por el personal de la planta de tratamiento. La toma de muestras se realizó el mismo día en que se tomaron los fangos de la cuba de aireación que sirvieron de inóculo para la planta piloto.

III.3.2. Técnicas analíticas aplicadas al control del reactor

Determinación potenciométrica del pH

La determinación del pH se realizó sobre muestras del tanque de aireación inmediatamente después de su toma.

Se utilizó un pH-metro modelo MicropH 2002 de la casa Crison, de alta resolución y controlado por microprocesador. El equipo posee un sistema autocalibrante, que ajusta automáticamente las soluciones tampón de pH 9.26, 7.02, 4.00 y 2.00. Además, dispone de sonda de temperatura que realiza la compensación automática de la misma. Se utilizó un electrodo combinado de pH Ingold de tipo estándar modelo 104023311.

La sonda de pH empleada está dotada de un termómetro que permite el registro de la temperatura del reactor.

Oxígeno Disuelto y Temperatura

En un sistema aerobio de tratamiento de las aguas residuales, la determinación del oxígeno disuelto en el reactor es un parámetro esencial para el control del sistema.

111

Las medidas de oxígeno disuelto y temperatura se llevaron a cabo usando un oxímetro de membrana de la casa WTW modelo oxi330i/SET. Este aportaba datos con una precisión de 0,1 ppm de oxígeno. El equipo era calibrado periódicamente ajustando la saturación de oxígeno con un sistema oxical que incorporaba.

Las determinaciones de oxígeno disuelto y temperatura de los reactores aerobios fueron realizados “in situ” en el propio reactor (tanque de aireación).

Sólidos Totales y Sólidos Volátiles en Suspensión.

Los sólidos totales analizados en los experimentos se clasifican en dos categorías: Sólidos Totales en Suspensión (STS) y Sólidos Volátiles en Suspensión (SVS). Para la cuantificación de cada uno de ellos se utilizaron técnicas diferentes:

- Los Sólidos Totales en Suspensión (STS) se determinaron sobre las muestras del tanque de aireación. La determinación se llevó a cabo mediante filtración previa de las muestras en un equipo Millipore, utilizando una membrana AP4004705 de peso seco conocido. Las membranas, una vez concluido el proceso de filtración, se llevaron a

sequedad (en estufa a 105 °C durante 24 horas) hasta peso constante, determinándose posteriormente el contenido en sólidos por gravimetría.

Los resultados se expresan como gramos de sólidos en suspensión totales por litro de muestra (g/l).

- Los Sólidos Volátiles en Suspensión (SVS) se determinaron también por gravimetría, a partir de la membrana desecada de la anterior determinación. Dicha membrana se calcinó en un horno a la temperatura de 550 °C hasta peso constante (aproximadamente 2 horas).

Los resultados se expresan como gramos de sólidos en suspensión totales por litro de muestra (g/l).

Todas las determinaciones se realizaron en una balanza analítica Mettler H35AR, con una precisión de 0,0001 g. En cada serie de determinaciones, tanto de sólidos totales como de sólidos volátiles en suspensión, se incluyó una membrana libre de muestra, como blanco.

Estos parámetros se determinaron tanto sobre muestras del tanque de aireación como de la purga de fangos procedente del clarificador secundario.

Índice Volumétrico de Fangos (IVF)

112

Es el volumen en mililitros ocupado por el fango en una muestra de un litro de licor mezcla, después de 30 minutos de sedimentación, dividido por la concentración de sólidos en suspensión del licor mezcla (MLSS) en g. Este parámetro es una medida que permite conocer la capacidad de sedimentación de los fangos. Asimismo, el IVF permite detectar posibles problemas en la operación del sistema tales como *bulking* o esponjamiento del fango causado por bacterias filamentosas o problemas de nitrificación-desnitrificación. Valores de IVF superiores a 100-120 ml/gSTS comienzan a ser críticos y es necesario examinar las causas que provocan dicha situación.

Tabla III.5. Decantabilidad de un fango activado de acuerdo con su IVF (Wanner, 1997)

Tipo de fangos	IVF (ml/g)
Buena decantabilidad	< 100
Ligero	100 - 200
Bulking	> 200

En el presente trabajo, la determinación de este parámetro se realizó sobre un volumen de 100 ml del fango activo al no ser posible disponer de un litro por las pequeñas dimensiones del reactor. Para ello se empleó una probeta graduada de 100 ml de vidrio en la que se dejó decantar durante 30 minutos la muestra de fangos. Tras este periodo se anotó el volumen de fangos decantados en 30 minutos (V30). El índice volumétrico de fangos se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{IVF (ml/gSTS)} = 10 \cdot \text{V30 (ml)} / \text{gSTS}$$

siendo 10 es el factor de extrapolación de 100 ml a 1 l.

Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Las determinaciones de demanda química de oxígeno se realizaron por dicromatometría sobre las muestras del agua residual de alimentación y el efluente tratado, sin filtración previa.

La determinación de este parámetro se realizó según el método de reflujo cerrado, concretamente el método colorimétrico 5220D de la APHA-AWWA-WPCF (1992). De forma breve, el método consiste en mezclar un volumen de 2,5 ml de muestra con una solución oxidante, formada por dos reactivos: 3,5 ml de solución digestora (que contiene dicromato potásico, ácido sulfúrico y sulfato de mercurio disueltos en agua destilada) y 1,5 ml de una solución de ácido sulfúrico, que incluye sulfato de plata que actúa como catalizador en la reacción. Este método se considera válido para muestras con DQO que oscilen entre 0-500 mgO₂/l.

Los viales conteniendo la mezcla de muestra y solución digestora se introducen en un termorreactor (MERCK TR 205) y se incuban durante un tiempo de 2 horas a una temperatura constante de 148 ° C. Transcurrido este tiempo de reacción se determina el exceso de dicromato presente en el vial por espectrofotometría (absorbancia a $\lambda=585$ nm), empleando un espectrofotómetro.

El método espectrofotométrico necesita de una calibración previa. Los patrones se basaron en diluciones de ftalato hidrógeno de potasio de una concentración adecuada para dar la DQO requerida que cubre el rango de DQO (≤ 500 mgO₂/L). Los resultados se expresan como mg de oxígeno necesario para oxidar un litro de muestra (mgO₂/L).

III.3.3. Técnicas aplicadas a al determinación de la actividad microbiana

Tasa de Consumo de Oxígeno (OUR) y tasa específica de consumo de oxígeno (SOUR)

Para la determinación de la tasa endógena de consumo de oxígeno el procedimiento seguido fue el recomendado por los Métodos Normalizados (1992), y se describe a continuación:

Se tomaron 135 ml del fango del tanque de aireación y se introdujeron en una botella que contenía un imán agitador con el fin de conseguir su homogeneización. A continuación se introdujo un electrodo de oxígeno (mod WTW oxi330i/SET), protegiendo el contenido de la botella de la atmósfera, de forma que se evitara la transferencia de oxígeno hacia la muestra, por medio de un tapón de rosca sellado con una junta tórica. Los valores de oxígeno disuelto se registraron durante 10 minutos desde que se estabilizaba la medida. En la Figura III.3 se presenta un esquema del dispositivo usado para esta determinación.

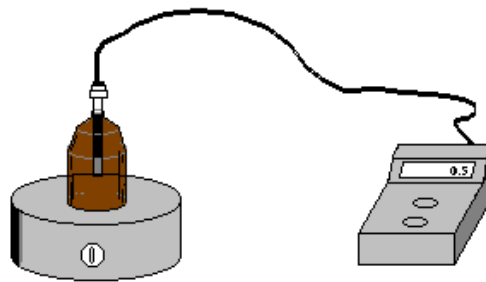


Figura III.3. Sistema usado para la determinación del OUR

Para el cálculo de la tasa de consumo de oxígeno (OUR), se representaron las lecturas de oxígeno disuelto (mg/l) frente al tiempo y se determinó la pendiente de la recta de ajuste óptimo. Esta inclinación representa la tasa de consumo de oxígeno en miligramos por litro y por minuto.

La tasa específica de consumo de oxígeno (SOUR) se calcula usando la expresión de Awong *et al.* (1985), que tiene la forma:

$$SOUR = \frac{1440 \times R}{C}$$

Donde:

SOUR: Tasa específica de consumo de oxígeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \text{SVS} \cdot \text{día}^{-1}$).

1440: Coeficiente que convierte los minutos a días.

R: Tasa de consumo de oxígeno.

C: Concentración de biomasa de la muestra (g SVS/l).

III.3.4. Técnicas microbiológicas

Técnicas de recuento bacteriano por microscopía de epifluorescencia

El recuento de microorganismos totales empleando epifluorescencia resulta el mejor método de recuento directo de microorganismos disponible. Consiste fundamentalmente en teñir las bacterias con un fluorocromo, para a continuación filtrarlas a través de un filtro de membrana. Por último, se cuentan bajo iluminación de epifluorescencia.

Los reactivos que se utilizan para recuento directo deben estar libres de bacterias y de materia particulada, para lo cual antes de utilizarlos deben pasarse por un filtro de membrana ($0,2 \mu\text{m}$ de poro) estériles y añadirle formalina para evitar posteriores contaminaciones.

Los principales fluorocromos utilizados para estimación de población total son el *naranja de acridina* y el *4, 6-diamidino-2-fenilindol (DAPI)*. Ambos colorantes permiten identificar bacterias no sólo por su color, sino también por el tamaño y forma de las mismas.

A pesar de las ventajas que supone el uso de los fluorocromos citados anteriormente, el uso de los mismos no permite distinguir entre la distribución de células muertas, metabólicamente inactivas, y las vivas, ya que el ADN conserva sus propiedades incluso en células muertas. Sin embargo, estos fluorocromos si permiten distinguir las bacterias de la materia orgánica particulada. Por ejemplo, con el naranja de acridina las partículas se tiñen de rojo, naranja o amarillo, mientras que las bacterias se tiñen principalmente de verde.

Desde que fue introducido, el fluorocromo DAPI ha reemplazado casi totalmente al naranja de acridina, pudiendo ser empleado en un amplio rango de tipos de muestras. DAPI no es un intercalador, sino que se trata de un colorante específico del ADN, el cual fluoresce en una longitud de onda aproximada de 390 nm, observándose un color azulado.

Existen otros fluorocromos que permiten distinguir las bacterias metabólicamente activas de las que no lo son, de forma que se puede hacer una estimación de la productividad. Entre ellos cabe destacar la sal de tetrazolium llamada "*5-cyano-2,3-dihydrotetrazolium chloride*" (CTC). El

método, conocido genéricamente como "CTC", ha sido utilizado para la detección de bacterias que tiene una actividad respiratoria (Rodríguez *et al.*, 1992).

El método utilizado en este estudio fue el desarrollado por Griebe *et al.* (1997) y se basa en la detección por microscopia de epifluorescencia del depósito de formazán que se forma al reducirse al sustrato original (CTC) a CTC-formazán por la actividad respiratoria de las células.

Los reactivos utilizados, tanto la sal de tetrazolium (cloruro de 5-cyano, 2,3- di-4-tolyl tetrazolium, CTC) como el 4,6-diamidino-2- fenilindol (DAPI), fueron suministrados por la casa comercial Polyscience Inc.

Las muestras de lodos (1 ml) se incubaron con la sal de tetrazolium, CTC (1 ml), a una concentración de 4 mM, durante un intervalo de tiempo de dos horas, a temperatura ambiente y en oscuridad. Al cabo de este tiempo, la reacción se interrumpió mediante la adición de 1ml de formaldehído tamponado al 37%.

A continuación, y antes de realizar las diluciones necesarias, la muestra se introdujo en un baño de ultrasonidos (ULTRASON-S, Selecta de 6 l de capacidad) durante un intervalo de tiempo de 10-15 minutos, con el fin de destruir los flóculos y las posibles asociaciones existentes que impidiesen un recuento fiable y eficaz de la muestra.

Después, se realizaron las diluciones necesarias para llegar a una concentración de células adecuada para ser contadas. El medio de dilución utilizado fue agua tamponada filtrada a través de un filtro de 0,2 μm y estéril.

Para alcanzar la concentración de células adecuadas para ser contadas al microscopio, se llevaron a cabo diluciones sucesivas de 1/10. Partiendo de la dilución 1/3 de la reacción inicial de CTC, se llevaron a cabo diluciones sucesivas hasta 1/15000. A esta dilución final se le añade 1 ml de DAPI (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) para la determinación de las células totales, para lo cual se dejó incubar a temperatura ambiente y en oscuridad durante un intervalo de tiempo de 15 minutos.

Esta dilución se filtró a través de un sistema de microfiltración usando una membrana de policarbonato de 0,2 μm de tamaño de poro (Millipore GTBP, Ireland). El filtro se secó al aire y se montó con aceite de inmersión de baja fluorescencia (Laboratorio Cargille, Inc) sobre un portaobjetos, sobre el que se colocó otra gota de aceite y un cubreobjetos de cristal.

Las muestras preparadas se examinaron a X1000 aumentos usando para ello un microscopio Nikon (Labophot-2A/2), que está equipado con un sistema de epifluorescencia (lámpara "OSRAM" de mercurio de 100W). La combinación de filtros para ver las muestras tratadas con CTC consistió en un filtro de excitación de 400 a 480, en un filtro barrera con una longitud de onda de 490 nm y un espejo dicróico de 510 nm. Las muestras teñidas con reactivo DAPI se han observado empleando otra combinación de filtros específica para este fluorocromo, compuesto por un filtro de excitación con una longitud de onda de 365 nm, filtro barrera de 400nm y el espejo dicróico de 455 nm. En la Figura III.4 se presenta un esquema del protocolo seguido en la determinación de las células activas y las totales.

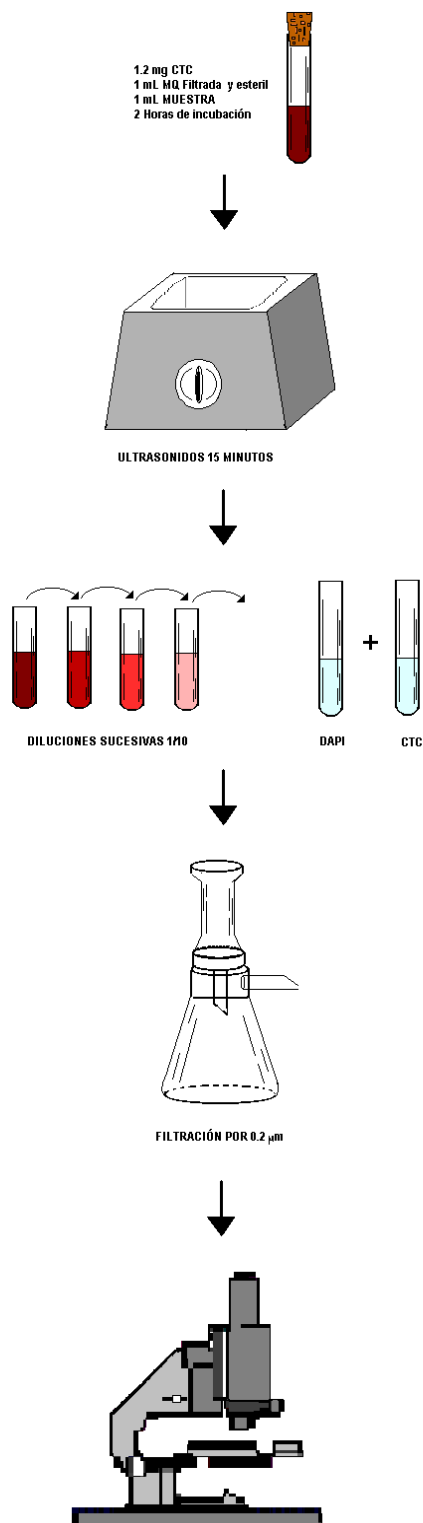


Figura III.4. Esquema del protocolo seguido en la determinación de la relación células activas/totales (CTC/DAPI)

Conversión del número de células contadas a unidades de células por ml.

En la realización de los recuentos se ha considerado la observación de una media de entre 8 campos por muestra establecidos al azar (evitando los bordes del filtro).

Para determinar el número de microorganismos contenidos en un mililitro de muestra se utiliza la siguiente fórmula de conversión:

$$N = \frac{S \times n}{C \times V} \times D$$

Donde:

N: número de microorganismos por mililitro.

S: superficie real de filtración: 3,1416 cm².

n: número medio de microorganismos por campo de visión

C: superficie real del campo al microscopio (0.025 mm²)

V: volumen de muestra filtrado (10 ml)

D: dilución de la muestra

Observación directa del fango al microscopio óptico

El tipo de microorganismos que podemos encontrar en las unidades de lodos activos depende claramente de las características del influente, de las condiciones experimentales, y del modo de operación de la planta. El éxito de una planta de lodos activos depende de la comunidad biológica que se desarrolla en ella ya que es la responsable de la eliminación y asimilación (consumo) de la materia orgánica del agua residual. Por ello, es conveniente realizar un control de las poblaciones existentes en el fango activo y posibles alteraciones de la comunidad microbiana establecida pues puede ser indicativo de problemas operacionales.

La observación directa al microscopio se realiza disponiendo un pequeño volumen de muestra del fango activo sobre un portaobjetos sobre el que se coloca un cubre. Las muestras preparadas se examinaron a x40 aumentos usando para ello un microscopio Nikon (Labophot-2A/2).

III.3.5. Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano.

Como la mayor parte de las estrategias de reducción de fangos residuales estudiadas en el presente trabajo de investigación se basa en la limitación del crecimiento de los microorganismos presentes en el sistema de lodos activos, se han realizado ensayos de evaluación del crecimiento microbiano en modo *batch*, para comprobar dicho efecto, determinando el valor del rendimiento $Y_{x/s}$ o Y_{obs} . Estos ensayos se realizaron al finalizar cada una de las etapas en las que se han dividido los ensayos previstos en cada una de las fases del estudio que han venido determinadas por distintas condiciones de operación (distintos tiempos hidráulicos de residencia en el reactor, más concretamente).

Para el desarrollo de estos ensayos se tomaba una muestra del fango activo y se introducía en un reactor de vidrio de 125 ml de capacidad, si la etapa era intermedia y el ensayo continuaba bajo otras condiciones, o 1.500 ml, si la etapa coincidía con el final del ensayo.

La aireación de estos reactores se realizaba con piedra porosa, que a su vez permitía su homogeneización.

Al inicio del ensayo, se adicionaba agua residual sintética concentrada al reactor. El volumen adicionado era tal que la carga orgánica resultante era igual a la aportada en el sistema de lodos activos durante 24 horas. Este volumen estaba determinado tanto por el volumen del reactor discontinuo como por el tiempo hidráulico de residencia que caracterizó la etapa del estudio.

119

A los tiempos 0, 2, 5 y 24 horas del inicio del ensayo se tomaban muestras de fango que se filtraban sobre una membrana AP4004705 para la determinación de los sólidos en suspensión totales y volátiles siguiendo, el método definido en el apartado anterior, y la demanda química de oxígeno que se realizaba sobre el filtrado, siguiendo también el método descrito anteriormente. La tasa Y_x o Y_{obs} , viene dada por el cociente entre el incremento de biomasa en el reactor (medido como SVS) y el consumo de materia orgánica (DQO):

$$Y_{obs} = \frac{\Delta SVS (mg / l)}{\Delta DQO_{consumida} (mg / l)}$$

Capítulo IV.

Resultados y discusión

Como ha sido mencionado en el capítulo II de Antecedentes bibliográficos, existen diversas estrategias dirigidas a reducir la producción de fangos en exceso en los sistemas biológicos de depuración, del tipo lodos activos y/o análogos (cultivos en suspensión). Sin embargo, hasta el momento, la mayor parte de los estudios han sido desarrollados en reactores discontinuos o en modo *batch* y se han centrado, principalmente, en determinar el fundamento de cada una de las estrategias, obviando los efectos de las mismas sobre el comportamiento y funcionamiento del reactor biológico a medio o largo plazo.

El desarrollo de la presente tesis doctoral persigue conocer cuales son los efectos de algunas de estas estrategias sobre un sistema de lodos activos trabajando en continuo, para lo cual se han empleado unidades a escala de laboratorio, cuya descripción detallada quedó recogida en el capítulo III de Material y Métodos.

En este capítulo, se presentan y discuten los resultados obtenidos de la aplicación de tres estrategias para reducir los fangos residuales en un sistema de lodos activos a escala de laboratorio:

- Adición de compuestos químicos desacopladores del metabolismo celular.
- El proceso OSA o inclusión de una cámara de retención anóxica en la línea de recirculación de lodos.
- Adición de enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares generados en una unidad de digestión aerobia de fangos.

IV.1. Optimización de las condiciones de operación de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio. Seguimiento de las poblaciones microbianas durante la puesta en marcha del sistema.

Para alcanzar los objetivos propuestos en este trabajo de investigación, el primer paso consistió en el desarrollo de un protocolo apropiado para la puesta en marcha y mantenimiento de las plantas piloto empleadas en la parte experimental ya que, para la correcta evaluación de las estrategias para la reducción de fangos, se requería su operación en continuo durante un periodo prolongado de tiempo. Asimismo, se pretendía evitar los distintos problemas que se pudieran presentar durante el desarrollo de los ensayos, como la aparición repetida de fenómenos de *bulking* filamentoso que impide la estabilización del sistema. Adicionalmente, se realizó un seguimiento de las poblaciones de microorganismos que fueron apareciendo en el fango activo a lo largo del periodo de puesta en marcha, sirviendo de bioindicadores del estado del proceso de depuración.

IV.1.1. Ensayo para la selección de la procedencia de los fangos empleados para inocular la planta piloto

122

En primer lugar, fue necesario buscar un inóculo adecuado para la puesta en marcha del sistema a escala de laboratorio. Para ello, se tomaron fangos procedentes de la cuba de aireación de cuatro estaciones depuradoras de la Bahía de Cádiz, que cuentan con sistemas de lodos activos como tratamiento secundario de las aguas residuales. Las estaciones seleccionadas fueron la EDAR “La Barrosa” (Chiclana de la Frontera), la EDAR “Cádiz-San Fernando”, la EDAR “El Trocadero” (Puerto Real) y la EDAR “Guadalete” (Jerez de la Frontera). Estos fangos se dispusieron en cuatro reactores de vidrio de 1,5 l de capacidad y se mantuvieron en aireación continua mediante difusores durante los 15 días que duró el ensayo. Asimismo, se dispuso un quinto reactor al que se añadió agua residual procedente del decantador secundario de la EDAR “El Trocadero” para lograr su maduración y la obtención de un fango activo plenamente adaptado a la alimentación sintética empleada y a las condiciones ambientales del laboratorio. La temperatura durante el ensayo se mantuvo en torno a 20 ± 2 °C.

Al comienzo del ensayo, los reactores se alimentaron con un agua residual decantada procedente igualmente de la EDAR “El Trocadero”. Esta agua residual presentó una DQO de 800 mg/l y una DBO₅ de 400 mg/l. Posteriormente, y de forma gradual, se fue introduciendo la alimentación sintética, cuya composición se describe en la Tabla III.3 del capítulo III de Material y Métodos, hasta que ésta se convirtió en la única fuente de alimentación. Las proporciones de agua residual real y sintética fueron variando de la siguiente forma: 100%-0%, el primer día; 75% - 25%, el segundo; 50%-50%, el tercero; 25%-75%, el cuarto; y 0%-100, el quinto. El agua residual sintética presentaba una DQO de 20.000 mg/l y una DBO₅ de 16.000 mg/l, aproximadamente.

El modo de operación de estos reactores fue secuencial. Diariamente, se interrumpía la aireación del sistema durante 2 horas, para dar tiempo a que los fangos decantaran en cada uno de los reactores. Tras este periodo, se eliminaban 100 ml del sobrenadante y se adicionaban 100 ml de agua residual, real y/o sintética siguiendo las proporciones anteriormente indicadas. La carga aplicada a los reactores aumentó de 0,03 kg DBO₅/m³·d (empleando únicamente agua residual real) hasta 1,06 kg DBO₅/m³·d (cuando la fuente de alimentación fue sintética). Durante este ensayo no se realizó purga de fangos de ninguno de los reactores.

La Figura IV.1 muestra una fotografía del ensayo planteado, en el que se diferencian los cuatro reactores inoculados con fangos de las distintas EDAR de la Bahía de Cádiz y el reactor con agua residual en proceso de maduración.

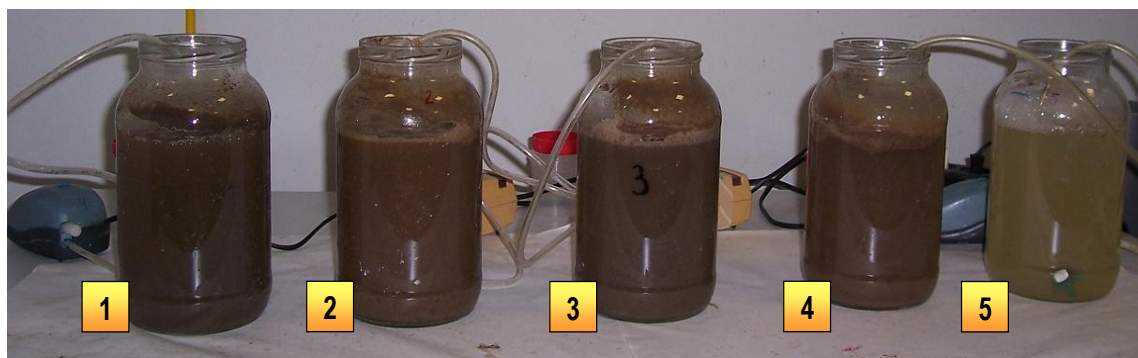


Figura IV.1. Inóculos procedentes de diversas estaciones depuradoras de la Bahía de Cádiz: (1) “La Barrosa”; (2) “Cádiz-San Fernando”; (3) “El Trocadero”; (4) “Guadalete”; y (5) “Agua residual madurando”.

La duración del ensayo fue de 15 días. Durante este periodo el seguimiento realizado sobre los cuatro reactores con fangos consistió en la determinación periódica de los STS (g/l), la V30 (en un volumen de 100 ml) y la DQO del efluente final. Asimismo, se realizó una observación directa al microscopio óptico a fin de evaluar el comportamiento de las poblaciones microbianas existentes en el fango. Sobre el reactor con agua residual en periodo de maduración, también se realizó el seguimiento de las poblaciones. En la Figura IV.2, se muestran la evolución de los STS (g/l), la V30 (ml) y la DQO final del efluente en los cuatro reactores inoculados con fangos de distintas EDAR.

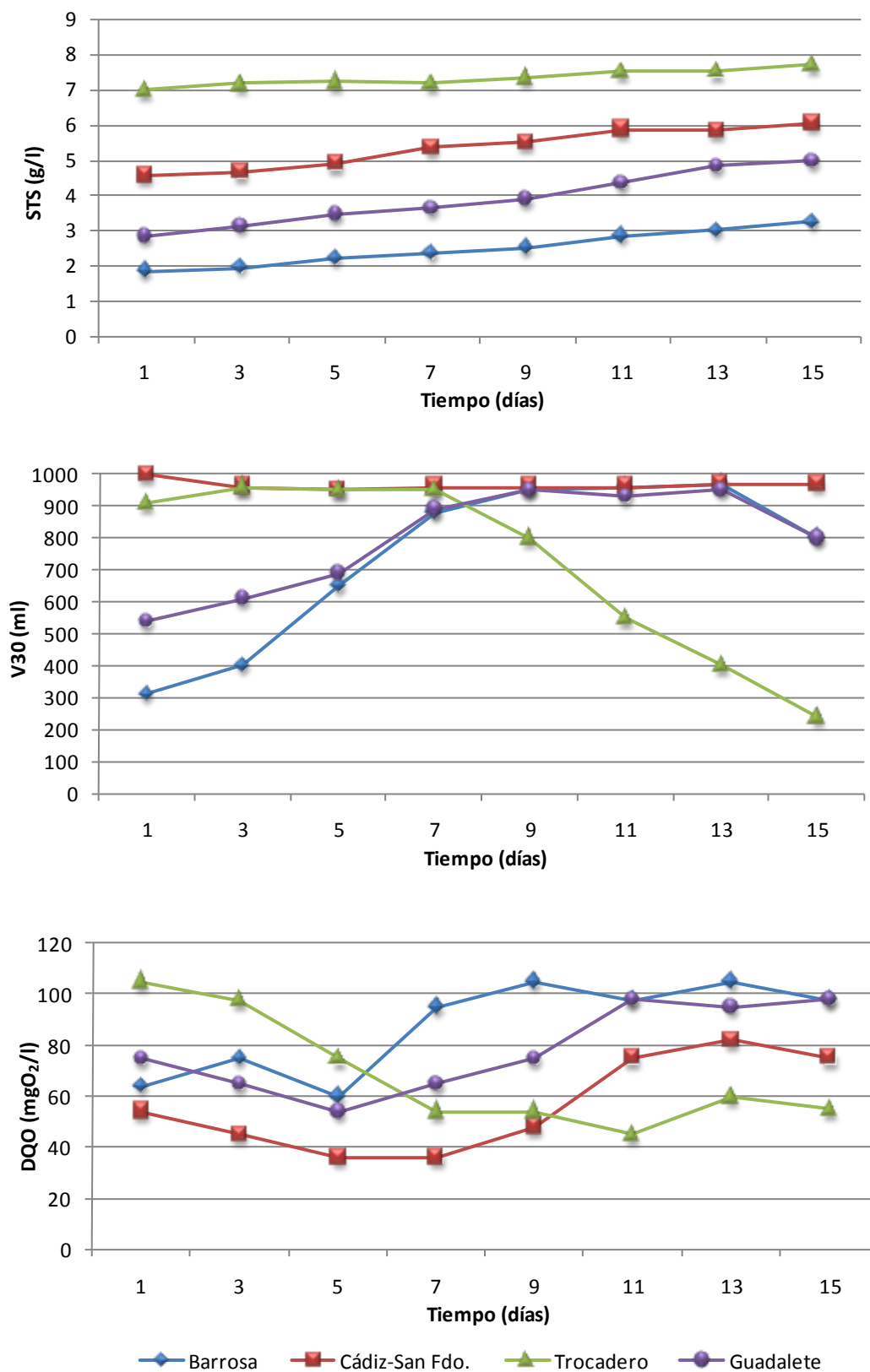


Figura IV.2. Evolución de STS (g/l), V30 (ml, corregido a 1litro) y DQO efluente (mg/l)

Tal y como se observa en la figura, la concentración de sólidos en suspensión de partida en cada uno de los reactores fue distinta, debido a que fueron inoculados directamente con los fangos de las cuatro estaciones de tratamiento sin ningún tipo de acondicionamiento previo (ni concentración ni dilución), salvo un tamizado para la eliminación de partículas de gran tamaño. Por tanto, estas concentraciones coincidían con las de trabajo en cada una de las depuradoras seleccionadas en este estudio. Destaca la alta concentración registrada en la EDAR “El Trocadero” en comparación con las observadas en el resto de estaciones. Independientemente de la concentración de partida, la evolución de los sólidos en suspensión en los cuatro reactores fue la misma durante el ensayo. Dado que durante los 15 días en que se desarrolló el ensayo no se purgaron fangos de los reactores tras la fase de decantación (última fase de la secuencia de operación), la concentración de sólidos aumentó en cada uno de ellos. Los mayores incrementos se observaron en los fangos de la EDAR “La Barrosa” y “Guadalete”, que fueron los que presentaron el menor contenido en sólidos al inicio del ensayo.

En cuanto a la decantabilidad de los fangos representada por la V30, en líneas generales, el comportamiento fue malo en los cuatro reactores. Tanto el fango de la EDAR “La Barrosa” como de la EDAR “Guadalete”, que en un principio presentaban un bajo valor de la V30, empeoraron su sedimentabilidad a medida que avanzó el ensayo. Por su parte, los fangos de la EDAR “Cádiz-San Fernando” presentaron una V30 bastante constante en el tiempo, en torno a los 1.000 ml. Este valor tan elevado indica que el fango presentó una muy mala capacidad de sedimentación. De hecho, tras las dos horas de decantación diarias para la eliminación del sobrenadante, el manto de fangos presentaba una alta inestabilidad dificultando la toma manual de los 100 ml de sobrenadante. A diferencia de los otros reactores, los fangos de la EDAR “El Trocadero” mejoraron su capacidad de sedimentación al pasar de valores de V30 cercanos a 1.000 ml a menos de 300 ml al finalizar el ensayo.

En lo que respecta a la calidad del efluente final también se observaron diferencias en los cuatro reactores. En los correspondientes a los fangos de las EDAR “La Barrosa” y “Guadalete”, los menores valores de DQO se obtuvieron en los primeros días de ensayo. A partir del día 7 de ensayo, la DQO del efluente empeoró en ambos casos, coincidiendo con la pérdida de sedimentabilidad de los fangos, tal y como se ha comentado anteriormente. De hecho, en el sobrenadante se observaron gran cantidad de microflóculos. En cuanto al reactor con fangos de la EDAR “Cádiz-San Fdo.”, a pesar de la baja capacidad de sedimentación, presentó una buena eficiencia en eliminación de materia orgánica, siendo los valores máximos de DQO registrados en torno a 80 mg/l. Por su parte, el efluente del reactor con fangos procedentes de la EDAR “El Trocadero”, mejoró a lo largo del ensayo de forma paralela a la capacidad de sedimentación. Al final del periodo de estudio, la DQO en este reactor se estabilizó en 55 mg/l aproximadamente.

La explicación al comportamiento observado en estas variables se encuentra en la propia microbiología del fango activo, como lo demuestra el seguimiento realizado mediante el microscopio óptico:

Fangos de la EDAR “La Barrosa”

Inicialmente, se observaron filamentosas en número superior a 5 filamentos por flóculo por lo que, según el manual “Microorganismos Filamentosos en el fango activo” realizado por EMASESA (Parody D.F., 1997), estaría dentro de la categoría de “comunes”. Los flóculos presentaban un tamaño pequeño. Asimismo, se observaron poblaciones de protistas como *Vorticella* sp., *Aspidiscas* sp. y *Litonotus* sp. y algunos metazoos (rotíferos y nemátodos) aunque en menor número. Esta alta diversidad de organismos indicaba que el fango presentaba un elevado grado de madurez.

Una vez la alimentación pasó a ser únicamente de carácter sintético (a partir del día 5 de ensayo), se produjo una mayor proliferación de bacterias filamentosas que comenzaron a crear puentes interfloculares, aumentando la disgregación de los flóculos. Aún así, el fango siguió conservando una elevada diversidad biológica con la presencia de *Aspidiscas* sp., que junto a las filamentosas constituían la población dominante, algunas *Vorticellas* y otros protozoos sésiles filtradores (tipo *Opercularia* sp), rotíferos y nematodos.

Trascurridos 10 días desde el inicio del ensayo, se observó la desaparición de los organismos sésiles bacteriófagos, aumentando la turbidez en el sobrenadante del reactor. Las poblaciones de protozoos reptantes (tipo *Aspidiscas*) fueron sustituidas por pequeños zooflagelados nadadores de tamaño pequeño, típicos de la puesta en marcha del sistema de fangos activos, indicando la alteración e inestabilidad del medio. De hecho, durante esta última etapa, los valores de DQO en el efluente final se incrementaron con respecto al inicio del ensayo.

Fangos de la EDAR “Cádiz-San Fernando”

El inóculo inicial presentó un gran número de bacterias filamentosas, creando una maraña de filamentos que dificultaba notablemente la agregación de los flóculos y, por tanto, la decantación de los fangos (valores de V30 cercanos a 1.000 ml). De hecho, dicha estación depuradora estaba sufriendo episodios de *foaming* y levantamiento incipiente de lodos en el decantador secundario el día en que se recolectó el fango. A pesar de la situación descrita, se decidió continuar con el ensayo propuesto para ver si la evolución era positiva bajo las condiciones de laboratorio.

A parte de las bacterias filamentosas, el inóculo inicial presentaba algunas poblaciones de protozoos, como *Opercularia* sp. y *Aspidiscas* sp. También se observaron algunos metazoos como *Gastrotricha*.

Con el transcurso del ensayo, no se observó mejoría en cuanto a la dominancia de las bacterias filamentosas con respecto a las formadoras de flóculos. En cuanto a los protistas, tampoco se observaron importantes cambios en la composición de la comunidad, aunque al final del

ensayo, al igual que ocurrió en los fangos de la EDAR “La Barrosa”, comenzaron a proliferar organismos flagelados de pequeño tamaño, indicando una mayor inestabilidad e inmadurez del fango.

Fangos de las EDAR “El Trocadero”

Estos fangos presentaban una alta concentración de biomasa, que se reflejó en una matriz densa en la que no se diferenciaban flóculos individuales. En dicha matriz sobresalía la presencia de bacterias con formas de espirilos y algunos filamentos aunque no tan abundantes como en los fangos de la EDAR “Cádiz-San Fdo.”. No obstante, los fangos presentaban una baja capacidad de sedimentación, como se ha comentado anteriormente (ver Figura IV.2). En cuanto a organismos protistas, se observaron algunas *Aspidiscas* sp. y *Vorticellas* sp. aunque en muy bajo número. También se encontraron algunos nematodos, típicos de fangos con elevado tiempo de retención celular, como al que se encuentran sometidos los fangos de la EDAR “El Trocadero” (ver capítulo III de Material y Métodos).

En el transcurso del ensayo, no se observaron muchos cambios en la comunidad microbiana, salvo por la aparición de algunos *Epistylis* sp. y rotíferos. La aparición de estos organismos, en torno al día 7 de ensayo, coincidió con un descenso en la turbidez del sobrenadante y en la DQO del mismo. Asimismo, comenzaron a distinguirse flóculos de tamaño medio, ejerciendo las bacterias filamentosas como ejes estructurantes de los mismos. De hecho, el valor de la V30 disminuyó notablemente, aumentando la capacidad de sedimentación de los fangos (ver Figura IV.2).

127

Fangos de las EDAR “Guadalete”

Los fangos de las EDAR “Guadalete” presentaron flóculos de tamaño medio con alta disgregación. Se observaron algunas filamentosas así como *Aspidiscas* sp. y *Opercularias* sp. en bajo número. Durante los primeros días de ensayo, la población de *Aspidiscas* creció notablemente hasta situarse como población dominante. También aparecieron algunas colonias de *Epistylis* sp., por lo que la calidad del efluente aumentó notablemente (día 5). Posteriormente, aparecieron algunos rotíferos aunque en pequeño número.

A partir del día 7, las filamentosas comenzaron a desarrollarse notablemente, creando puentes interfoculares, que provocaron un aumento de la V30 y, consecuentemente, la pérdida de la sedimentabilidad de los fangos. Asimismo, se observó una pérdida de las poblaciones de protistas. Sólo en los últimos días del ensayo, volvieron a aparecer algunos protistas ciliados y algunos rotíferos. Todos estos cambios poblacionales también se apreciaron en la calidad del efluente final, que empeoró durante los últimos días del ensayo.

Reactor con agua residual en maduración

El reactor con agua residual en maduración no fue objeto de seguimiento de los sólidos en suspensión, la V30 y la DQO, pero sí se hizo un seguimiento de las poblaciones microbianas en el microscopio óptico. Al cabo de 10 días, comenzó a observarse flóculos muy pequeños con una alta dispersión. En ningún momento se observaron poblaciones de protozoos por lo que se decidió no emplear este agua madura para inocular la planta piloto a escala de laboratorio ya que el tiempo necesario para obtener un fango con una concentración adecuada de biomasa se estimó excesivo.

La Figura IV.3 muestra una imagen del fango activo en un episodio de *bulking* filamentoso en el que se aprecia la alta dispersión de los flóculos provocada por los puentes interfloculares.

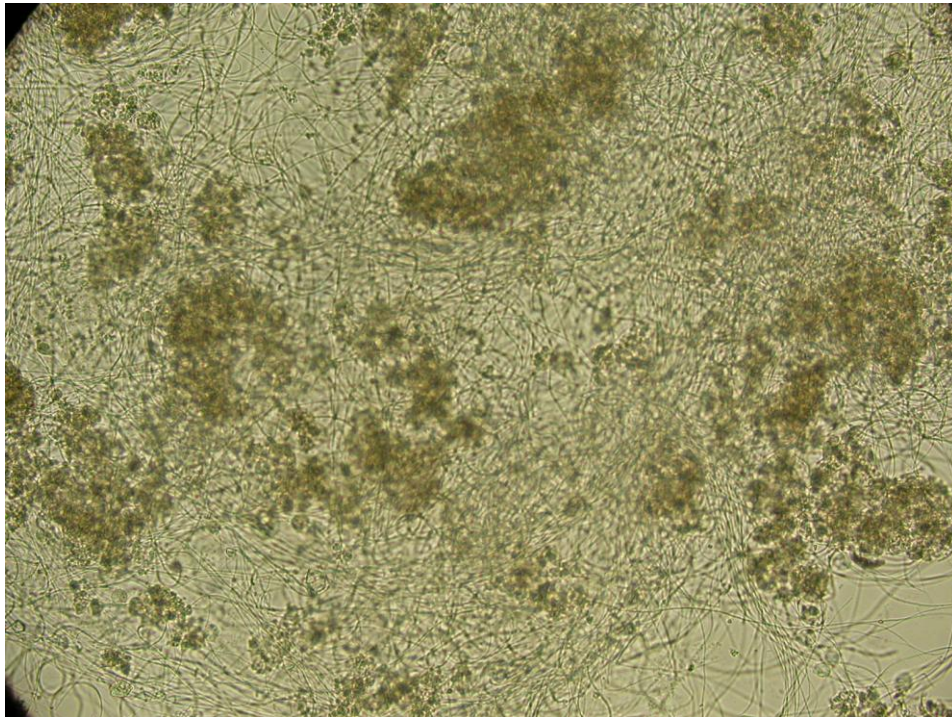


Figura IV.3. Foto en detalle del crecimiento masivo de organismos filamentosos y la disgregación de flóculos por puentes interfloculares.

A tenor de los resultados de este ensayo, los fangos que presentaron un mejor comportamiento y que se adaptaron más positivamente a la alimentación sintética y las condiciones de laboratorio fueron los procedentes de la EDAR “El Trocadero”. Por ello, se decidió emplear los fangos de esta estación como inóculo de la planta de lodos activos a escala de laboratorio.

IV.1.2. Puesta en marcha y operación del sistema de lodos activos a escala de laboratorio y seguimiento de las poblaciones microbianas.

Esta primera etapa de funcionamiento en continuo del sistema de lodos activos, en la que se definió el protocolo de puesta en marcha y mantenimiento, se desarrolló en varios ensayos.

Ensayo 1

Una vez seleccionada la procedencia de los fangos que se iban a emplear como inóculo de la planta de lodos activos, se procedió a la puesta en marcha del sistema piloto, cuyas características quedan detalladas en el capítulo III de Material y Métodos. Esta planta se inoculó con los fangos de la EDAR “El Trocadero” ya adaptados a la alimentación sintética, procedentes del ensayo anterior. Para ello, se tomaron los 1.500 ml de fango que presentaban una concentración de sólidos en suspensión cercana a los 8 g/l, y se diluyeron en unos 5.000 ml del agua residual sintética (DQO= 435 mg/l). El caudal de alimentación se estableció inicialmente en 0,3 l/h, de forma que el tiempo hidráulico de residencia resultante en la cuba de aireación fue de 11 horas aproximadamente. La alimentación empleada fue de carácter sintético.

A fin de alcanzar las condiciones de operación de un sistema de lodos activos convencional (THR 4-8 horas), el caudal de alimentación se fue aumentando gradualmente. A pesar de que el fango estaba previamente adaptado a las condiciones de laboratorio, durante estas primeras pruebas en continuo apareció el fenómeno de *bulking* filamentoso, dificultando la estabilización del sistema (ver figura IV.4). Para tratar de corregir esta situación, se decidió modificar los parámetros de operación, concretamente los caudales de alimentación y recirculación de los fangos. De esta forma, el ensayo quedó dividido en una serie de etapas, caracterizadas por distintos THR y cocientes $Q_{\text{recirculación}} / Q_{\text{alimentación}}$, (ver Tabla IV.1)

Tabla IV.1. Condiciones de operación del sistema en el primer ensayo en la planta de lodos activos

Etapa	Periodo (días)	Caudal alimentación, Q_a (l/h)	THR (horas)	Caudal de recirculación, Q_r (l/h)	Cociente Q_r / Q_a
1	1	0,3	11	0,17	0,56
2	2-4	0,4	9	0,17	0,42
3	5-13	0,7	5	0,17	0,25
4	14-20	0,7	5	0,42	0,6
5	21-36	0,42	8	0,24	0,57
6	37-42	0,42	8	0,24	0,57
7	43-44	0,54	6,5	0,24	0,44
8	45-51	0,42	8	0,225	0,53
9	52-68	0,42	8	0,225	0,53

La Figura IV.4 muestra la evolución de los sólidos en suspensión (g/l), el IVF (ml/gSTS) y tasa de respiración ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) del fango activo en cada una de las etapas en que se dividió el ensayo.

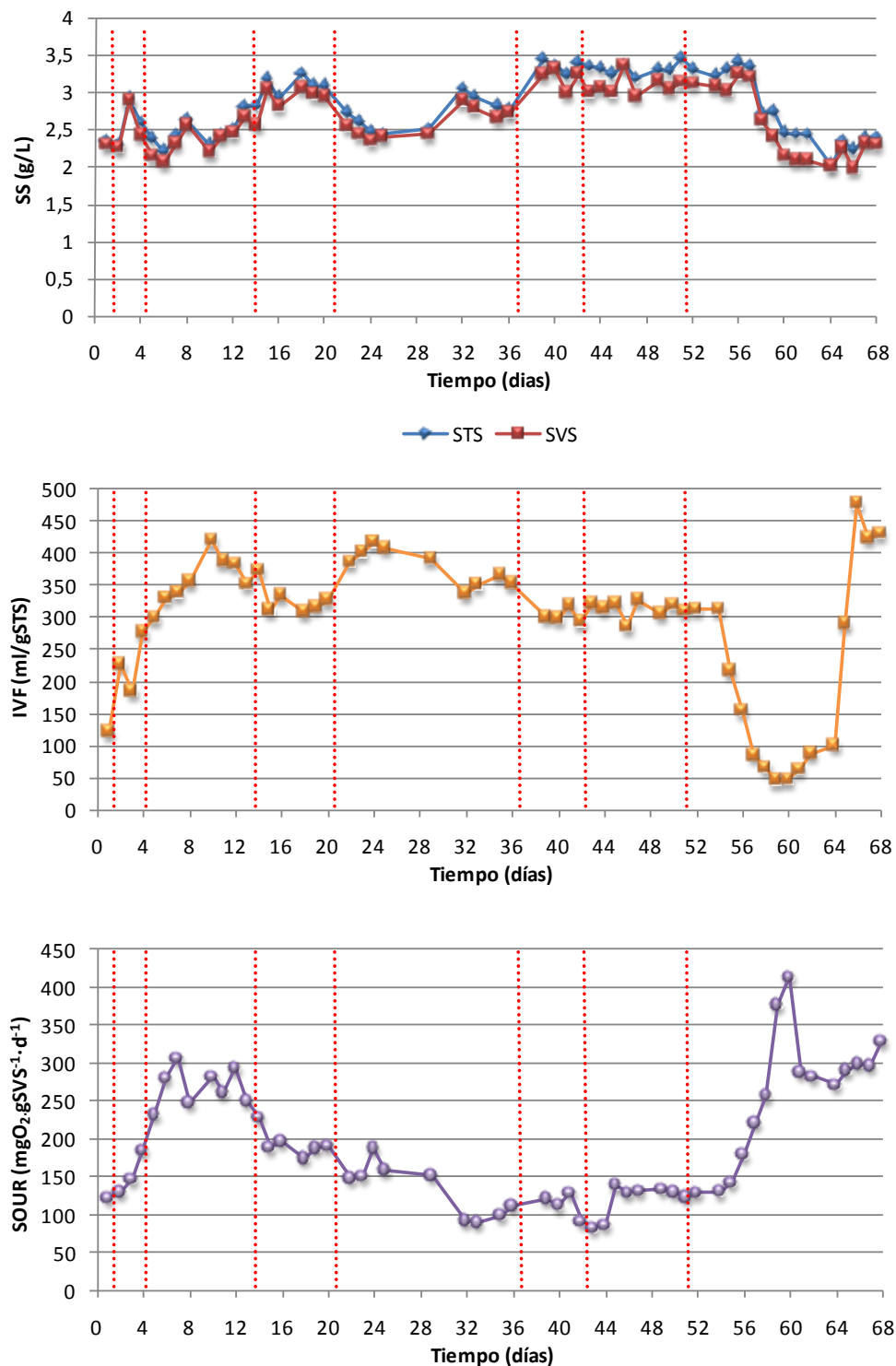


Figura IV.4. Evolución de los SS, IVF y SOUR en el primer ensayo en continuo

A continuación, se describe el comportamiento del sistema en cada una de las etapas, incluyendo los resultados del seguimiento de las poblaciones microbianas en el fango activo.

Etapas 1 (día 1)

Una vez inoculado el reactor con los fangos aclimatados procedentes de la EDAR “El Trocadero”, el tiempo hidráulico de residencia se estableció en 11 horas, con el objeto de no someter a los microorganismos presentes en el medio a una muy elevada carga en comparación a la que se aplicó en el ensayo en modo *batch*. Los sólidos en suspensión en el reactor aerobio se situaron en torno a 2,3 g STS/l, siendo el porcentaje de materia volátil del 98%. La tasa específica de consumo de oxígeno (SOUR) registrada fue $121 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, dentro del rango de valores típicos observados en fangos de la EDAR “El Trocadero” (ver Tabla III.2, capítulo III de Material y Métodos). El índice volumétrico de fangos alcanzó los 122 ml/gSTS, siendo levemente superior al valor umbral de referencia que permite distinguir a los fangos con buena capacidad de sedimentación ($\leq 120 \text{ ml/gSTS}$) de los que presentan problemas durante la fase de decantación ($> 120 \text{ ml/gSTS}$).

El efluente del sistema presentó un aspecto turbio con algunos microflóculos en suspensión. La DQO final fue 85 mg/l, siendo el rendimiento del sistema del 80%. A través del microscopio óptico se observó que el fango carecía de organismos sésiles bacterívoros del grupo *Peritricos*, pudiendo ser ésta la causa de la turbidez del efluente. No obstante, el cambio en la operación del sistema, de modo *batch* a modo continuo, también pudo provocar esta situación. En el medio se observaron algunas bacterias filamentosas pero sin desarrollar puentes interfloculares. Los flóculos tenían un tamaño medio.

131

Etapas 2 (días 2-4)

El aumento en el caudal de alimentación del sistema llevó consigo un aumento tanto de los sólidos en suspensión en el reactor ($2,60 \pm 0,30 \text{ gSTS/l}$) como de la tasa de respiración del fango activo (hasta $180 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), siendo este el comportamiento esperado ante las nuevas condiciones de operación. Lamentablemente, el IVF también aumentó hasta alcanzar registros cercanos a 300 ml/gSTS, aunque a través de la observación al microscopio no se detectó una proliferación masiva de organismos filamentosos. Por tanto, la baja capacidad de sedimentación observada en los fangos del tanque de aireación tuvo que deberse a otro factor (no *bulking* filamentoso).

El fango se caracterizó por la presencia de protozoos flagelados de tamaño medio tipo *Aspidiscas* y algunas colonias de organismos sésiles filtradores (tipo *Epystylis*). La presencia de estos organismos se tradujo en un efluente poco turbio, siendo la DQO de 40 mg/l.

Etapas 3 (día 5-13)

Tal y como estaba previsto, el caudal de alimentación se incrementó a 0,7 l/h, resultando un tiempo de residencia hidráulico en el tanque de aireación de 5 horas, característico de un sistema de lodos activos convencional.

Durante esta fase, el contenido en sólidos en suspensión presentó una evolución muy fluctuante, con máximos y mínimos alternados. La concentración media se estableció en $2,42 \pm 0,21$ g/l, pero se registraron máximos de hasta 2,80 g/l. La tasa de respiración sufrió un importante incremento con respecto a las fases anteriores, como respuesta directa a la mayor carga orgánica aplicada diariamente al sistema. El SOUR medio de esta fase fue $260 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ y la DQO del efluente final 41 mg/l. Con respecto a la capacidad de sedimentación de los fangos, el descenso en el tiempo hidráulico de residencia del tanque de aireación se tradujo en un incremento en el IVF (máximo 335 ml/gSTS) con alto riesgo de pérdida de flóculos a través del efluente.

La observación directa del fango al microscopio óptico confirmó la dominancia de los sésiles filtradores durante los primeros días de esta fase. También se observaron poblaciones de *Aspidicas*, y filamentosas abundantes pero "controladas". Al cabo de los días se observó la pérdida de la población *aspidiscas* que fueron sustituidas por pequeños zooflagelados, indicadores de la alteración e inestabilidad del sistema. De hecho, las filamentosas comenzaron a crecer desmesuradamente, abriendo los flóculos mediante puentes interfoculares, adquiriendo el fango un aspecto de nube de algodón (ver Figura IV.5). Este fenómeno coincidió con los días en los que se registraron los mayores valores de IVF.

Para intentar controlar el manto de fangos en el decantador secundario y mejorar la sedimentación de los lodos, se aumentó el caudal de recirculación a 0,4 l/h ($Q_r/Q_a=0,57$) y se cortó la agitación por palas, aunque no tuvieron los resultados deseados. Al final de esta etapa disminuyeron las colonias de *peritricos* filtradores y aparecieron algunos *Litonotum* que se constituyeron como población dominante.

El desarrollo del fenómeno de *bulking* filamentoso en este ensayo no estuvo relacionado con la presencia de bacterias filamentosas en el inóculo inicial pues éste estaba previamente adaptado a las condiciones de operación del laboratorio. Entre las posibles causas del desarrollo masivo de las bacterias filamentosas descritas en la bibliografía (Parody D.F., 1997) y la aparición de fenómeno de *bulking* filamentoso en el fango activo, se encuentran: la baja relación entre las concentraciones de sustrato y microorganismos (A:M), bajo nivel de oxígeno, agua procedente de fosas sépticas, presencia de sulfuros, deficiencia de nutrientes y bajo pH. Ninguna de estas condiciones se dio en este ensayo, ya que el valor mínimo de la relación A:M fue $0,4 \text{ d}^{-1}$, el oxígeno disuelto se mantuvo por encima de 2 mg/l, y las aguas empleadas no tuvieron origen séptico pues se trataba de un agua sintética que además carecía de sulfuros y presentaba un equilibrio nutricional y un pH neutro.

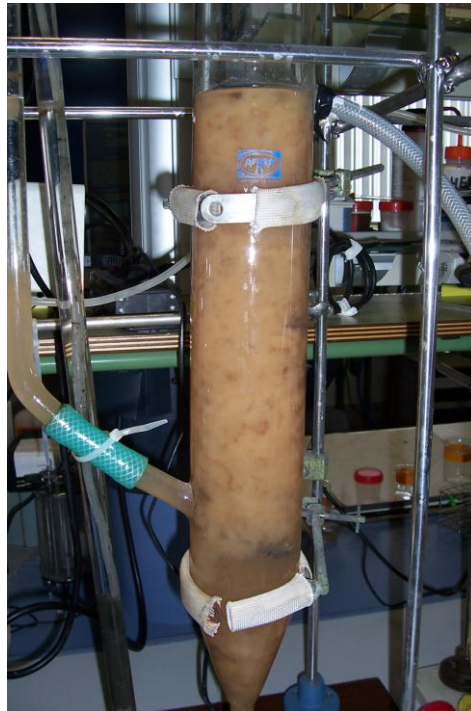


Figura IV.5. Detalle del decantador secundario bajo fenómeno de *bulking* severo

Algunos autores (Miyazato *et al.*, 2006) han confirmado que la peptona, componente principal del agua residual sintética empleada en estos ensayos a escala de laboratorio, puede favorecer el desarrollo de los organismos filamentosos. Por ello, se decidió cambiar la composición del agua residual sintética y emplear otra basada en sacarosa. La composición de esta agua queda recogida en la Tabla IV.2.

133

Tabla IV.2. Composición del agua residual sintética basada en sacarosa

Compuesto	Concentración (mg/l)
Sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	300
$(NH_4)_2SO_4$	75
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	10
K_2HPO_4	18
$MnSO_4 \cdot H_2O$	1
$CaCl_2$	0,26
$FeCl_3 \cdot 6 H_2O$	0,05

Esta agua residual presentaba una DQO teórica de 376 mg/l y una DBO_5 de 340 mg/l.

Etapa 4 (días 14-20)

Salvo por el tipo de alimentación, las condiciones de operación en esta etapa fueron similares a las de la etapa anterior.

Los sólidos en suspensión mantuvieron su tendencia ascendente observada en las etapas previas, siendo la concentración promedio $3,08 \pm 0,18$ g/l. Por el contrario, la tasa de respiración disminuyó notablemente, estabilizándose en torno a $188 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Este descenso pudo estar motivado por la menor carga orgánica aplicada al sistema ya que el nuevo influente presentó una menor DQO teórica que la basada en proteasa peptona.

El IVF registró un leve descenso con respecto a la etapa anterior, si bien los valores detectados no descendieron de 300 ml/gSTS y el fango presentó una mala capacidad de sedimentación. Aun así, no se registraron episodios de pérdida de fangos a través del efluente y la DQO del mismo promedio de esta etapa fue 25 mg/l aproximadamente.

A nivel microscópico se observó una repentina pérdida de las colonias de peritricos observadas en la etapa anterior, aunque fueron sustituidas por *Vorticellas* individuales y otros bacterívoros individuales no coloniales. Durante esta etapa la población dominante fue de *Litonotum* aunque se observaron algunas poblaciones de ciliados de tamaño medio como *Euploes*. En cuanto a las bacterias filamentosas se observó un aumento tanto en abundancia como en ramificaciones.

Etapa 5 (21-36)

134

Ante la inestabilidad del sistema bajo THR de 5 horas, reflejada por altos valores del IVF y la proliferación de organismos filamentosos, se decidió aumentar el tiempo de residencia en el reactor aerobio hasta 8 horas ($Q = 0,42$ l/h). Como respuesta a este descenso en el caudal aportado al sistema, la concentración de sólidos en suspensión disminuyó en el tanque de aireación hasta valores en torno a 2,5 g/l. No obstante, el día 32 de ensayo se observó un pico de sólidos, alcanzándose los 3,04 g/l en el tanque de aireación. Este aumento en la concentración de sólidos debió a que el sistema no fue purgado en dos días.

La actividad respiratoria de los fangos mantuvo la tendencia descendente iniciada en la etapa anterior, registrando valores cercanos a $90 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Estos valores fueron menores incluso a los registrados el día 1 de ensayo, en el que el fango no estaba adaptado plenamente al funcionamiento del sistema en continuo.

Durante esta fase se registró un nuevo incremento del IVF, superando los 400 ml/gSTS. Este incremento conllevó un aumento del manto de fangos en el decantador secundario del sistema. No obstante, la homogeneidad en la carga hidráulica aplicada al sistema y la inexistencia de puntas de caudal evitó la pérdida de sólidos a través del efluente. Por eso, a pesar de la inestabilidad del manto de fangos, la DQO promedio del efluente final fue $27,6 \pm 8,2$ mg/l.

A través del microscopio óptico se observaron largos filamentos de, al menos, dos especies distintas de bacterias filamentosas (ver Figura IV.6). Igualmente se encontraron algunas

Vorticelas, pero sin las ramificaciones que aportaban al efluente final una turbidez muy baja. Estas colonias desaparecieron al cambiar la composición de la alimentación sintética de forma paulatina. La población de *Litonotum* también descendió con respecto a observaciones anteriores y se detectaron algunas larvas telotrocas (en pequeño número). En definitiva, el fango en esta etapa se caracterizó por una baja diversidad biológica. Al final de la misma, aparecieron algunos organismos succionadores, asociados a bajas cargas, por lo que se decidió aumentar la concentración de la DQO del influente en un 50% (DQO teórica 450 mg/l).

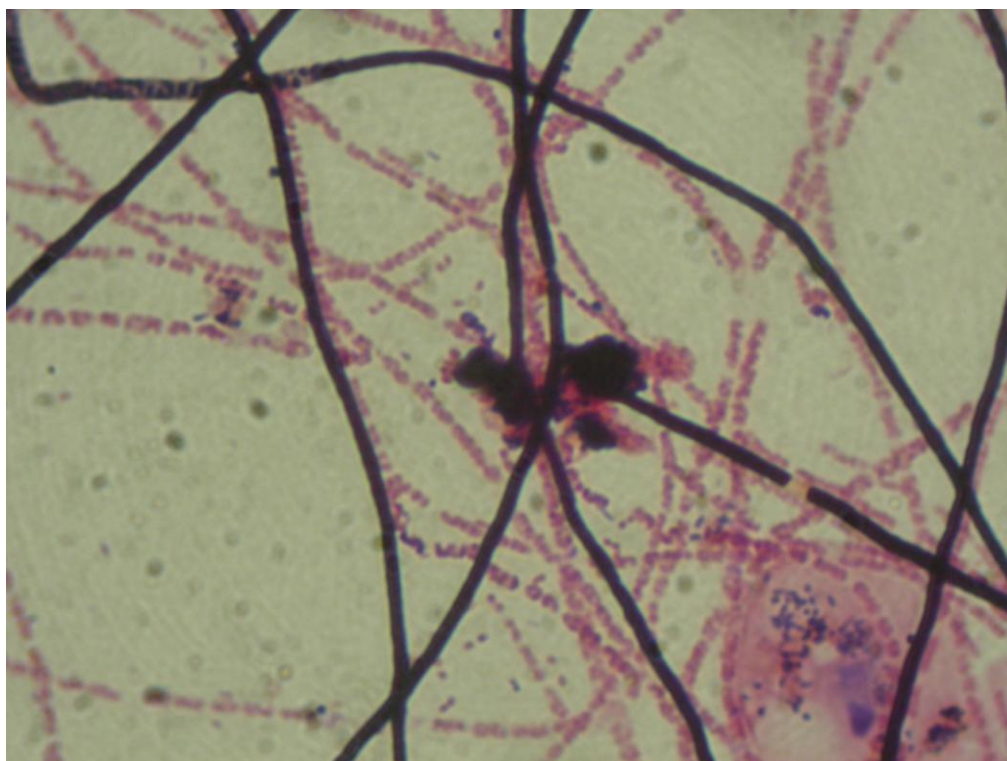


Figura IV.6. Bacterias filamentosas bajo tinción *Gram*.

Etapa 6 (37-42)

Las condiciones de operación del sistema en esta etapa fueron idénticas a las de la etapa anterior salvo por el aumento de la carga de DQO aplicada al sistema.

Durante el inicio de esta etapa no se pudo realizar la purga de fangos del decantador secundario, observándose un incremento en la concentración de sólidos en el tanque de aireación ($3,36 \pm 0,09$ g/l). Posteriormente, el contenido en sólidos se mantuvo prácticamente constante antes del inicio de la siguiente fase del estudio. El IVF descendió con respecto a las etapas anteriores aunque los valores registrados fueron muy superiores a los 120 ml/gSTS tomados como referencia (ver Figura IV.4). El SOUR se recuperó levemente del descenso observado en la etapa anterior aunque los valores se estimaron muy bajos para la carga aplicada al sistema ($113 \pm 16,0$ mg/l). La DQO del efluente final se situó en 30 mg/l, resultando un rendimiento superior al 90%.

El incremento en la carga aplicada al sistema favoreció la aparición de poblaciones de *Litonotum*, algunas *Vorticelas* y *Epystilis* aunque de pequeño tamaño. Se observaron también pequeños zooflagelados asociados al aumento de la carga orgánica y la inestabilidad del sistema. La población de bacterias filamentosas no sufrió ningún cambio apreciable (largos filamentos creando puentes interfloculares).

Etapa 7 (43-44)

El día 43 de ensayo se decidió disminuir el THR a 6,5 h para volver a condiciones de operación similares a las convencionales. Sin embargo, el efecto inmediato fue un aumento del manto de fangos en el decantador secundario por lo que se decidió volver a THR de 8 horas y de esta forma minimizar el riesgo de pérdida de los fangos con el efluente. Lo más sorprendente de esta corta etapa fue el valor tan bajo del SOUR ($84 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), contrario al efecto esperado.

Etapa 8 (45-51)

El THR en el tanque de aireación se estableció en 8 horas. Con ello, se consiguió estabilizar el manto de fangos en el decantador secundario. En esta etapa, los sólidos en suspensión, el IVF y la tasa de respiración de los fangos se mantuvieron relativamente constantes en el tiempo. Los valores promedio de cada uno de estos parámetros fueron $3,30 \pm 0,10 \text{ gSTS/l}$, $312 \pm 15 \text{ ml/gSTS}$ y $130,42 \pm 5,53 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. La DQO del efluente del sistema fue de 40 mg/l, si bien presentó una cierta turbidez.

La observación al microscopio reportó la ausencia de organismos superiores (protistas), lo cual es indicativo de un fango de muy baja calidad. Tan sólo a partir del día 50, se apreciaron poblaciones de pequeños zooflagelados, y algunos *Litonotus* y *Peritricos* en menor cantidad.

Etapa 9 (52-68)

A partir del día 52 se decidió incrementar la purga de fangos del tanque de aireación. De los 135 ml purgados diariamente en las etapas anteriores se pasó a 250 ml, con el consecuente descenso en la edad de los fangos. A nivel microscópico se observó un incremento de la población de rotíferos y descenso de las bacterias filamentosas. Macroscópicamente se produjo un descenso del IVF que, durante los días 57 a 64, se mantuvo por debajo del límite de referencia ($< 120 \text{ ml/gSTS}$). Posteriormente, y de forma repentina, volvió a aumentar. Ante esta situación se decidió poner punto y final a este ensayo.

Durante esta última etapa, los sólidos en suspensión descendieron notablemente en el tanque de aireación, estabilizándose en torno a 2 g/l. La tasa de respiración aumentó con respecto a fases anteriores, posiblemente por el incremento en la población de rotíferos, organismos con mayor demanda de oxígeno, registrándose un pico de más de $400 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, la máxima registrada en todo el ensayo. La DQO del efluente final aumentó con respecto a las etapas anteriores registrándose valores puntuales cercanos a los 125 mg/l. El valor promedio de esta última fase fue 61 mg/l.

A tenor de los resultados obtenidos en este primer ensayo, se puede afirmar que el sistema se volvió más inestable a medida que la operación se asemejó a las condiciones convencionales, aunque en ninguna de las etapas en las que se dividió el ensayo el comportamiento del sistema mostró síntomas de estabilidad. Asimismo, se comprobó que el fango perdió calidad al sustituir la alimentación sintética peptonada por la basada en sacarosa, mostrando una menor diversidad biológica. Durante el desarrollo de este ensayo se pudieron identificar algunas poblaciones bioindicadoras en el fango activo, como por ejemplo, la presencia de zooflagelados cuando el medio presentó una elevada inestabilidad. La inusual proliferación de bacterias filamentosas en el fango que previamente había sido aclimatado a las condiciones del laboratorio, pudo estar motivada por la alimentación sintética empleada en este ensayo.

Ensayo 2

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el ensayo 1, se optó por realizar un segundo experimento empleando como fuente de alimentación agua residual real procedente de una estación depuradora. Con esta alimentación se pretendía, además de aportar la materia orgánica necesaria para el mantenimiento del sistema, inocular de forma continua las bacterias formadoras de flóculos que acompañan las aguas residuales y, de esta forma, impedir que las filamentosas se convirtieran en la población dominante del sistema.

El agua residual empleada en este ensayo procedió del decantador primario de la EDAR “El Trocadero”, cuyas características principales quedan recogidas en el apartado I del capítulo III de Material y Métodos. No obstante, el empleo de agua residual real como fuente de alimentación del sistema a escala de laboratorio conlleva una serie de inconvenientes: la variación de su composición diaria y a largo plazo, la posibilidad de que se produzcan vertidos industriales o de cualquier otro origen que supongan un aporte de sustancias tóxicas o xenobióticas al sistema, y la necesidad de visitar periódicamente la EDAR para proceder a la recolección de las aguas residuales.

Para la realización del ensayo, se inoculó el reactor con 2,5 l de fangos procedentes de la cuba de aireación de la misma estación depuradora y se rellenó con el agua residual decantada. El caudal de alimentación se estableció en 0,46 l/h lo que supone un THR de aproximadamente 8 horas. El caudal de recirculación se fijó inicialmente en 5ml/min (0,30 l/h), de forma que el cociente Q_r/Q_a fue de 0,6 aproximadamente. El caudal de aireación se puso al máximo durante los primeros días de ensayo para garantizar una concentración de oxígeno adecuada durante la fase de aclimatación de los microorganismos a las condiciones de laboratorio y, posteriormente, se ajustó el oxígeno disuelto a valores próximos a 2 mg/l en la cuba.

La observación al microscopio del inóculo inicial mostró la existencia de bacterias con forma de espirales y abundantes microorganismos filamentosos, pero sin llegar a establecer puentes interfloculares. Los flóculos presentaron un tamaño medio. En cuanto a la comunidad protozoaria, se identificaron algunas poblaciones de *Vorticelas*, *Litonotus* y *Aspidiscas*. A raíz de

esta observación, se puede concluir que el fango presentaba una cierta estabilidad aunque no se apreciaron metazoos.

El ensayo tuvo una duración de 69 días durante los cuales se modificaron las condiciones de operación, al igual que en el ensayo anterior, que permitieron dividir el mismo en dos etapas bien diferenciadas. Durante los 28 primeros días de ensayo, el THR en el tanque de aireación se mantuvo en torno a las 8 horas, variándose en este caso el caudal de recirculación de fangos entre 0,3 l/h y 0,68 l/h, por lo que la relación Q_r/Q_a varió entre 0,65 y 1,37. Como será expuesto en párrafos posteriores, las condiciones testadas en este ensayo permitieron estabilizar el fango y evitar la proliferación masiva de microorganismos filamentosos. A partir del día 29, y una vez estabilizado el fango, se procedió a modificar también el caudal de alimentación estudiando el comportamiento del sistema bajo cuatro tiempos de residencia distintos: 11h, 9 h, 7 h y 5 h, si bien los resultados de esta segunda etapa, en la que se comprobó el efecto del tiempo hidráulico de residencia sobre la producción de fangos residuales, serán expuestos en el siguiente capítulo (IV.2.)

En la Tabla IV.3 se presentan los parámetros de operación impuestos al sistema de lodos activos durante la primera etapa del ensayo, diferenciándose tres subetapas.

Tabla IV.3. Parámetros de operación en la puesta en marcha del sistema alimentado con agua residual real

Periodo (días)	Caudal alimentación, Q_a (l/h)	THR (horas)	Caudal de recirculación, Q_r (l/h)	Cociente Q_r/Q_a
1-7	0,46	8	0,3	0,65
8-16	0,46	8	0,36	0,78
17-28	0,46	8	0,63	1,37

La evolución de los parámetros empleados en el seguimiento del sistema se recoge gráficamente en la Figura IV.7.

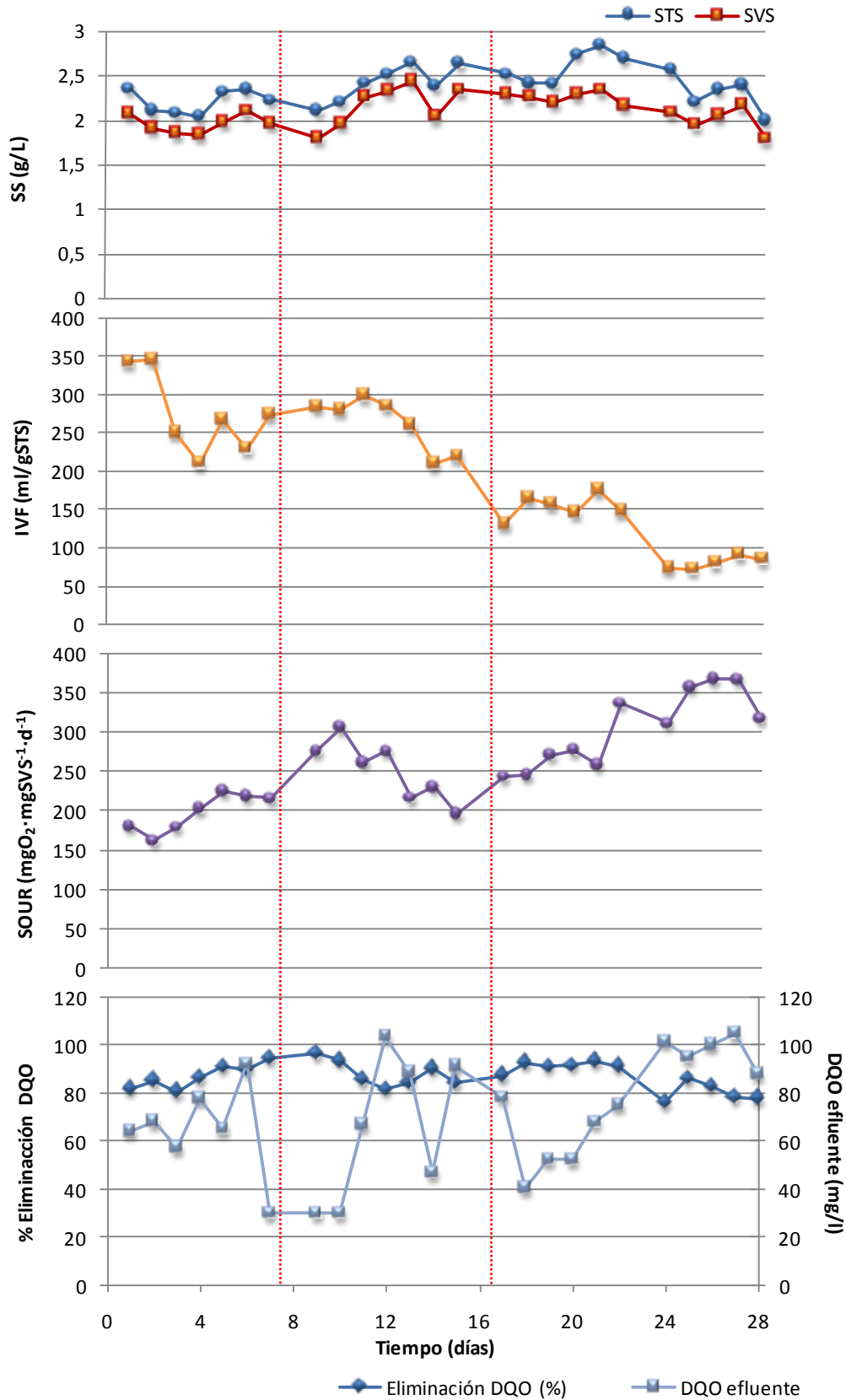


Figura IV.7. Evolución de SS, IVF, SOUR en la cuba de aireación y eficiencia del sistema alimentado con agua residual real

En la Figura IV.7 se observa que, en líneas generales, el contenido en sólidos totales en suspensión se mantuvo prácticamente constante a lo largo del ensayo, con algunas fluctuaciones que se pueden considerar normales dentro del funcionamiento del sistema en continuo. Por su parte, los sólidos volátiles presentaron una evolución análoga a la de los sólidos totales, siendo el porcentaje medio de materia volátil del 89%. Durante la primera fase del estudio, la concentración de sólidos totales y volátiles en suspensión fue $2,21 \pm 0,14$ mgSTS/l y $1,96 \pm 0,10$ mgSVS/l. El primer incremento del caudal de recirculación de fangos de 0,3 l/h a 0,36 l/h (etapa 2) propició un aumento de la cantidad de lodos en el tanque de aireación ($2,38 \pm 0,20$ mgSTS/l; $2,14 \pm 0,24$ mgSVS/l). El segundo incremento en la recirculación de fangos, que fue más notable (de 0,36 a 0,63 l/h), favoreció un segundo aumento en la concentración tanto de sólidos totales como volátiles, tal y como era esperado. En esta fase los valores alcanzados por los STS y SVS fueron $2,48 \pm 0,24$ mgSTS/l y $2,16 \pm 0,17$ mgSVS/l, respectivamente.

En lo que respecta al índice volumétrico de fangos (IVL), puede observarse en la Figura IV.7 que durante la primera etapa del ensayo (días 1-7), en la que el ratio Q_r/Q_a era de 0,65, el fango presentó una débil capacidad de sedimentación. En los dos primeros días de ensayo, en los que el fango aún no estaba aclimatado a las nuevas condiciones de operación, se registraron valores de IVL cercanos a los 350 ml/gSTS. Posteriormente, los fangos mejoraron su capacidad de sedimentación aunque los valores de IVL permanecieron por encima del valor de referencia (120 ml/gSTS). Al incrementar el caudal de recirculación a 0,36 l/h, resultando un cociente Q_r/Q_a de 0,78 (días 8 a 16 de ensayo), apenas se produjo variación en el índice volumétrico de fangos, permaneciendo en torno a 280-290 ml/gSTS. No obstante, durante estos días comenzó a producirse un incipiente levantamiento de fangos en el decantador secundario, observándose flóculos o agregados de gran tamaño flotando en la superficie del decantador y en los que era posible apreciar algunas finas burbujas. La presencia de burbujas se relacionó con altos tiempos de residencia de los fangos en el decantador secundario que propiciaban los procesos de desnitrificación. Para evitar en la medida de lo posible estos fenómenos se decidió aumentar aún más el caudal de recirculación (etapa 3), reduciendo de esta manera el tiempo de permanencia de los fangos en el clarificador secundario, quedando establecido en 0,63 l/h ($Q_r/Q_a = 1,37$). Bajo estas condiciones (días 17-28) se observó que no sólo se redujo la presencia de fangos flotantes en la superficie del decantador, sino que además se consiguió disminuir el índice volumétrico de fangos. De hecho, a partir del día 24 de ensayo, el IVF se situó por debajo de los 120 ml/gSTS, tomados como referencia en este trabajo experimental, estabilizándose en 81 ml/gSTS aproximadamente.

En líneas generales, la actividad respiratoria del fango presentó una tendencia ascendente a lo largo del ensayo, aunque mostró ligeros altibajos. Estas irregularidades pudieron estar motivadas por las variaciones de carga orgánica aplicadas al sistema ya que, al emplear como alimentación un agua residual procedente de una EDAR sometida a fluctuaciones de carga, la DQO del influente varió prácticamente de forma diaria. A mayor sustrato aportado al sistema, mayor fue la actividad respiratoria del fango activo.

La DQO del efluente final también sufrió importantes fluctuaciones a lo largo del ensayo, tal y como puede comprobarse en la Figura IV.7. Estas fluctuaciones estuvieron igualmente motivadas por la variación de la DQO influente y la carga aplicada al sistema. No obstante, en ningún caso, la DQO del efluente superó el límite establecido por la legislación en materia de vertido (125 mg/l). Incluso el rendimiento del sistema se mantuvo bastante constante en el tiempo, siendo el valor medio del 87%, registrándose máximos de hasta el 96%. Cabe destacar que los menores rendimientos del sistema se obtuvieron durante la etapa en la que descendió el IVF.

La observación directa de los fangos al microscopio óptico produjo los siguientes resultados. El inóculo inicial se caracterizó por la presencia de una matriz densa de bacterias en la que nos se identificaron flóculos bien definidos. Este hecho puede explicar la baja decantabilidad que presentaron los fangos en los días 1 y 2 de ensayo. Inmersos en dicha matriz se observaron algunos espirilos, típicos de los fangos de la EDAR “El Trocadero”, así como poblaciones de *Aspidiscas* sp. y *Euplotes* sp. Asimismo, se observaron algunas ramificaciones de organismos sésiles y algunos rotíferos. No se observaron microorganismos filamentosos. El fango, por tanto, presentaba un elevado grado de madurez desde el punto de vista microbiológico.

A partir del día 3 de ensayo, comenzaron a distinguirse flóculos individuales de tamaño medio, en el que se apreciaron algunos filamentos sobresaliendo de la estructura. Asimismo, se observó una importante pérdida en la calidad del fango ya que las poblaciones de rotíferos y los *Epystilis* del inóculo inicial desaparecieron. No obstante, en el fango activo se apreciaron algunas *Aspidiscas* y *Euplotes*, y surgieron pequeños zooflagelados indicadores de la alteración del sistema y típicos de la puesta en marcha de los reactores biológicos.

141

A medida que transcurrió el ensayo, la población de zooflagelados desapareció y las *Aspidiscas* se constituyeron como población dominante. La población de bacterias filamentosas permaneció sin variación aparente, sin llegar a desarrollar los episodios de *bulking* severo observados en ensayos anteriores. Aun así, el fango presentó una mala capacidad de sedimentación.

A partir del día 20 de ensayo, una vez incrementada la ratio Q_r/Q_a , se detectó un aumento de la diversidad de microorganismos presentes en el fango activo. Así pues, se observaron grandes colonias de *Epystilis* e importantes poblaciones de *Aspidiscas*, *Euplotes*, *Litonotus* y algunos zooflagelados. Las bacterias filamentosas se retrajeron en los flóculos, observándose menos puentes interfoculares con respecto a etapas anteriores, coincidiendo con el descenso en el IVF del día 24 de ensayo. También durante esta última fase, proliferaron algunos nematodos. Este hecho se reflejó en una mayor tasa de respiración del fango (ver Figura IV.7) al tratarse de organismos superiores con una mayor tasa de consumo de oxígeno.

IV.1.3. Conclusiones.

De los resultados obtenidos en estos primeros ensayos en la planta piloto de lodos activos, se obtienen las siguientes conclusiones:

- Para evitar la proliferación masiva de organismos filamentosos en el fango activo, la relación $Q_{\text{recirculación}}/Q_{\text{alimentación}}$ debe ser superior a la unidad. De esta forma se consigue estabilizar el manto de fangos en el decantador secundario minimizando el riesgo de pérdida de sólidos en el efluente.
- El sistema se vuelve inestable al asemejar las condiciones de operación a las de un sistema convencional de lodos activos. Concretamente, se observa que, para tiempos hidráulicos de residencia inferiores a 7 horas, el fenómeno de *bulking* filamentoso se asevera y las poblaciones microbianas muestran un elevado grado de alteración.
- La alimentación sintética empleada para el mantenimiento de los sistemas en el laboratorio puede favorecer el desarrollo de organismos filamentosos al presentar una composición rica en sustratos fácilmente biodegradables. Este hecho se ha comprobado tanto para la receta basada en proteasa peptona como para la basada en sacarosa. No obstante, la primera de ellas permite mantener una alta calidad del fango, mientras que la segunda disminuye la diversidad biológica.

Todos estos aspectos han sido tenidos en cuenta en el mantenimiento de los sistemas de lodos activos en los diferentes ensayos que constituyen la fase experimental del presente trabajo.

IV.2. Estudio de la influencia del tiempo de residencia hidráulico sobre el comportamiento de un sistema de lodos activos a escala de laboratorio y la producción de fangos

Las condiciones de operación del sistema de lodos activos determinan las propiedades del mismo. Cambios en el tiempo hidráulico de residencia, la carga orgánica aplicada al sistema o la edad del fango pueden producir alteraciones en el comportamiento del sistema, principalmente a nivel microscópico tal y como se ha observado en el capítulo anterior. La forma en la que es operado el fango activado puede incluso afectar a la tasa de crecimiento de los microorganismos presentes en el mismo.

El objetivo de este ensayo fue comprobar el comportamiento del sistema de lodos activos bajo distintos tiempos hidráulicos de residencia en el reactor, haciendo especial hincapié en la producción de fangos. Como ha sido comentado en el capítulo II de Antecedentes Bibliográficos, los sistemas que operan con tiempos de residencia hidráulico y tiempos de retención celular elevados se caracterizan por tener menores tasas de crecimiento microbiano y, consecuentemente, una menor producción de fangos en exceso. De hecho, algunas tecnologías existentes en el mercado, se basan en este principio para anular la línea de purga de fangos y comercializarse como sistemas no “generadores” de estos residuos.

Para el cumplimiento de este objetivo se emplearon dos plantas de lodos activos, una alimentada con agua residual real, cuyos fangos ya estaban aclimatados a las condiciones de operación del laboratorio, y otra con agua residual sintética (proteasa peptona) para la cual se siguió el procedimiento de puesta en marcha definido en el capítulo II de Material y Métodos, e incorporando todas las actuaciones comentadas en el capítulo IV.1 y encaminadas a evitar la proliferación masiva de organismos filamentosos durante dicha etapa. La puesta en marcha de este segundo sistema se realizó con vistas a evaluar la viabilidad de emplear la alimentación sintética en los ensayos posteriores, facilitando el desarrollo de los mismos.

Ambas plantas fueron operadas bajo las mismas condiciones, las cuales quedan recogidas en la Tabla IV.4.

Tabla IV.4. Condiciones de operación establecidas en el ensayo de la influencia del THR sobre la producción de fangos en exceso

Etapa	Periodo (días)	THR (h)	Caudal alimentación, Q_a (l/h)	Caudal recirculación, Q_r (l/h)	Q_r/Q_a
1	1-9	11	0,30	0,48	1,6
2	10-18	9	0,40	0,61	1,52
3	19-32	7	0,50	0,69	1,38
4	33-41	5	0,70	1,00	1,42

Tal y como se observa en la tabla anterior, en este ensayo se estudió el comportamiento del sistema bajo cuatro tiempos hidráulicos de residencia distintos, abarcando tanto condiciones de operación “convencionales” como las cercanas a la aireación prolongada, y evaluando la producción de fangos en exceso en cada una de ellas. El tiempo hidráulico de residencia se ajustó modificando el caudal de alimentación al sistema, ya que el volumen del reactor aerobio permaneció invariable. El ratio $Q_{\text{recirculación}}/Q_{\text{alimentación}}$ se mantuvo siempre por encima de la unidad, para favorecer la estabilización del sistema, siendo esta una de las mejoras en la operación identificadas en los ensayos de puesta en marcha (capítulo IV.1).

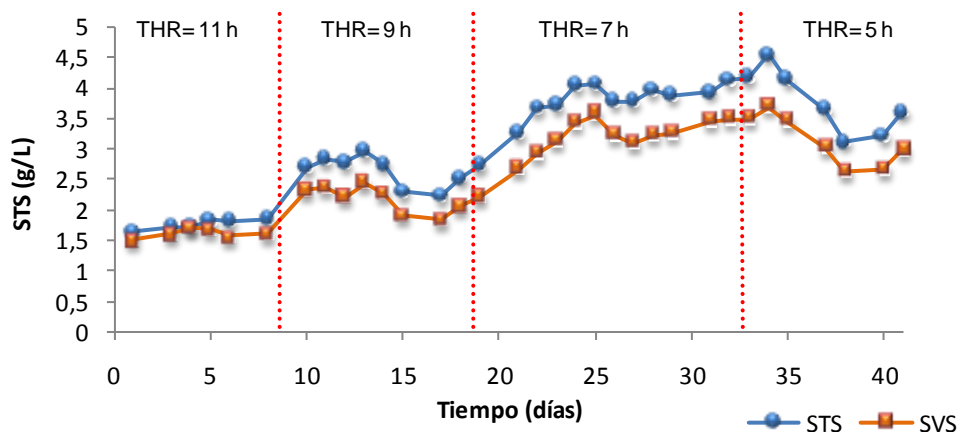
Asimismo, este ensayo sirvió de referencia (control) para los ensayos posteriores en los que se aplicaron las estrategias de minimización de fangos en exceso y que serán comentados en otros capítulos de la presente memoria.

IV.2.1. Evolución del sistema piloto alimentado con agua residual procedente de la EDAR “El Trocadero” bajo distintos tiempos hidráulicos de residencia.

En este apartado se presenta la evolución de los diferentes parámetros físico-químicos y biológicos analizados en el reactor alimentado con agua residual decantada bajo las distintas condiciones operativas definidas en la Tabla IV.4.

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

La siguiente figura muestra la evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión determinados en el tanque de aireación del sistema diferenciando las distintas etapas en las que se dividió el ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.8. Evolución de sólidos totales y volátiles en suspensión en el reactor con alimentación real

De forma general, en la Figura IV.8 se observa que los sólidos totales y volátiles en suspensión describieron una evolución paralela a lo largo de todo el ensayo, manteniéndose prácticamente constante el porcentaje de materia volátil (84%).

Durante la primera etapa, caracterizada por un THR de 11 horas (cercana a las condiciones de aireación prolongada), la concentración de sólidos totales y volátiles en suspensión fue $1,76 \pm 0,08$ g/l y $1,60 \pm 0,08$ g/l, respectivamente, mostrando una gran regularidad. Al incrementar el caudal de alimentación (THR = 9 horas), se produjo un incremento en la concentración de sólidos, como consecuencia directa de la mayor carga orgánica aplicada al sistema. En esta segunda etapa, la evolución de los sólidos fue más irregular que en la anterior. De hecho, entre los días 10 y 14 de ensayo la cantidad de materia en suspensión se estabilizó en torno a 2,75 g/l, pero el día 15 disminuyó hasta 2,22 g/l, sin haberse producido cambios en la operación del sistema. Al final de esta fase la concentración de sólidos en el tanque de aireación volvió a ascender.

La tercera etapa del ensayo (día 19) se inició con una concentración de sólidos 2,73 gSTS/l, la cual se fue incrementando a medida que transcurrió el tiempo, alcanzando un máximo superior a 4 gSTS/l en el día 25 de ensayo. Posteriormente, se estabilizó en torno a 3,9 gSTS/l. Durante esta etapa, el volumen de purgas de fangos en el decantador secundario se mantuvo sin variación, e incluso la relación Q_r/Q_a fue la menor de todo el ensayo. Por tanto, este incremento en la cantidad de sólidos y biomasa en el reactor fue consecuencia directa de la mayor carga orgánica aplicada al sistema. Sin embargo, esta lógica tendencia no tuvo continuidad en la última etapa de estudio, en la que se aumentó el caudal de alimentación hasta 0,7 l/h (THR= 5 horas) pero en la que disminuyó la concentración de sólidos en suspensión. Como se comentará en un apartado posterior, durante esta etapa el sistema se volvió inestable, como ya había sucedido en ensayos anteriores, produciéndose una pérdida de fangos a través

del efluente final. De hecho, la concentración de sólidos en el efluente rebasó el límite establecido por la legislación vigente (35 mg/l) registrándose valores de hasta 440 mg/l. Esta pérdida notable de fangos, provocó el descenso en la concentración de sólidos en el reactor y un efluente final de baja calidad.

La Figura IV.9 muestra la cantidad de fangos purgados del sistema (g) en cada una de las etapas, indicándose igualmente la tasa de purga de fangos que caracterizó a cada una de ellas. Para ello, se representa la cantidad acumulada de fangos eliminados a lo largo del periodo de tiempo en que se prolonga cada una de las etapas, considerando que al inicio de las etapas la purga de fangos es 0. De esta forma se obliga a que la línea de tendencia pase por el origen de coordenadas. La pendiente de la recta obtenida corresponde a la tasa de purga de fangos, expresado en g/d.

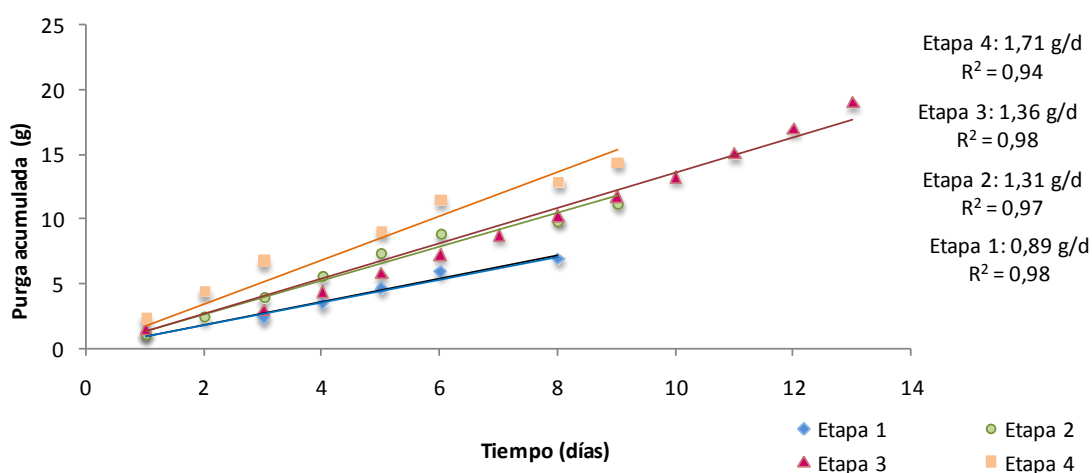
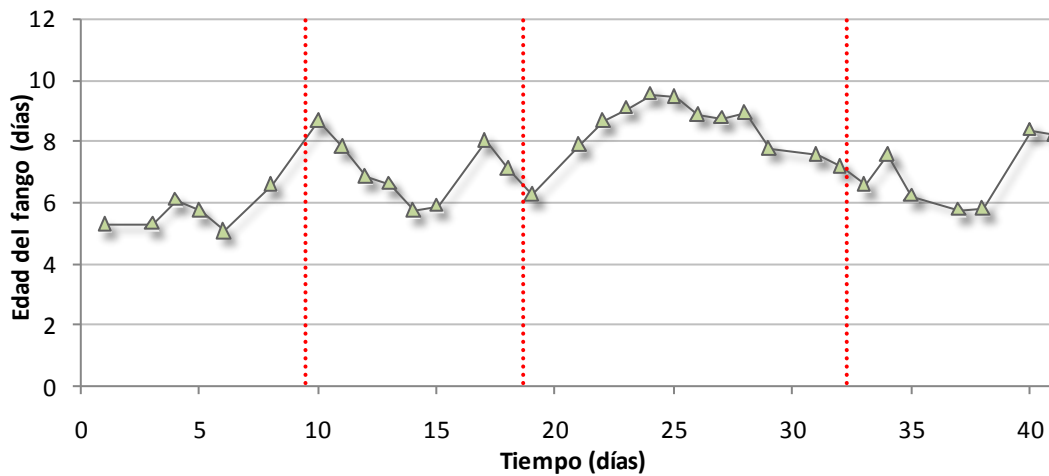


Figura IV.9. Cantidad de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas del sistema alimentado con agua residual real

Tal y como se observa en la Figura IV.9, la tasa de purga de fangos se incrementó a medida que el tiempo hidráulico de residencia disminuyó en el tanque de aireación. De 0,89 g/d purgados durante la primera etapa en la que el THR se mantuvo en 11 horas, se pasó a 1,71 g/d cuando el caudal de alimentación se estableció en 0,7 l/h (un 92% más de fango purgado del sistema). Para las etapas 2 y 3, caracterizadas por THR de 9 y 7 horas respectivamente, la tasa de purga de fangos se estableció en torno a 1,31-1,36 g/d (alrededor de un 50% más de fango purgado con respecto al valor obtenido para THR de 11 h). Esta evolución de la tasa de purga de fangos, unida al comportamiento del contenido en sólidos en suspensión reflejada en la Figura IV.8, permite concluir que a medida que el THR en el reactor disminuyó, mayor fue la producción de fangos generados en el sistema de lodos activos, obligando a una mayor purga de fangos para mantener la concentración de sólidos en suspensión en el reactor entre los valores adecuados.

Por último, para terminar este apartado, en la Figura IV.10 se presenta la evolución de la edad del fango o tiempo de retención de sólidos.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

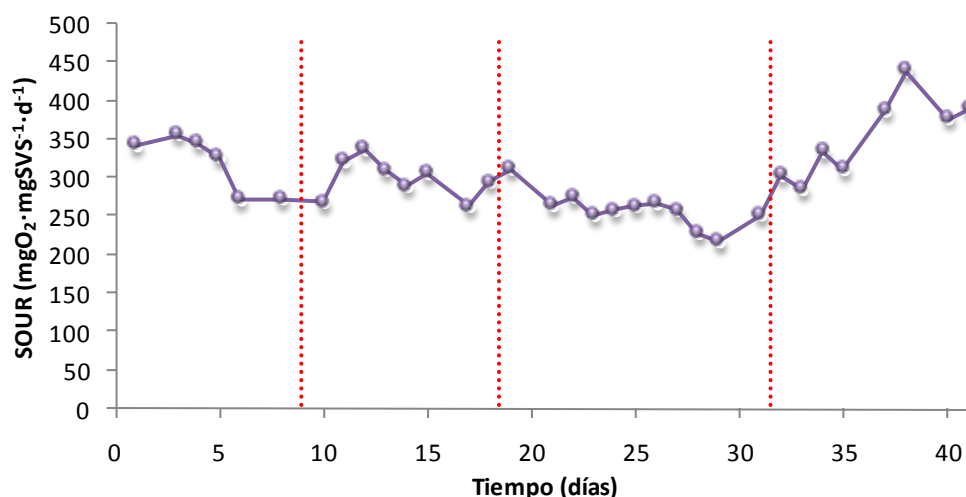
Figura IV.10. Edad del fango (días) en cada una de las etapas del sistema con alimentación real

Como se observa en la figura anterior, la edad del fango en el sistema de lodos activos alimentado con agua residual real presentó una evolución irregular, con altibajos continuos, en las distintas etapas en las que se dividió el ensayo. Como es sabido, la edad del fango depende de la cantidad de sólidos existentes en el sistema y la cantidad de fangos purgados o eliminados del mismo, que a su vez depende de la concentración de sólidos en la purga y el volumen de fangos purgados. La irregularidad en la edad del fango en este ensayo estuvo determinada por la variación en la concentración de sólidos tanto en el reactor de aireación como en la purga de fangos, ya que el volumen de fangos purgados del sistema se mantuvo prácticamente constante a lo largo de todo el ensayo. Los valores promedio obtenidos en cada una de las etapas fueron $5,7 \pm 0,6$ días (etapa 1), $7,1 \pm 1,0$ días (etapa 2), $8,3 \pm 1,0$ días (etapa 3) y $6,9 \pm 1,1$ días (etapa 4). Como se puede comprobar, la menor tasa de producción de fangos en exceso observada en la etapa 1, no coincidió con el mayor tiempo de retención celular (etapa 3).

A tenor de los resultados obtenidos en este estudio, la purga de fangos estuvo determinada por el tiempo hidráulico de residencia y la carga orgánica aplicada al sistema, y no por la edad del fango, como proponen otros autores (Stall y Sherrad, 1976).

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)

La Figura IV.11 muestra la evolución de la tasa específica de respiración exógena (SOUR) determinada en los fangos de la cuba de aireación a lo largo del ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.11. Evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el reactor con alimentación real

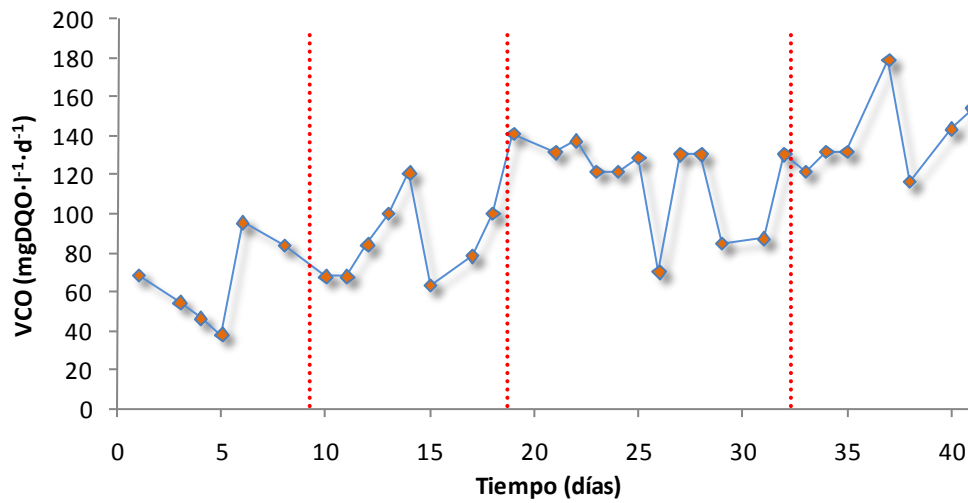
Al inicio de la etapa 1, la tasa de respiración de los fangos en el sistema se situó en torno a $350 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, aunque en el día 7 de ensayo se produjo un notable descenso hasta alcanzar los $270 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Ya en la segunda etapa del ensayo, al undécimo día se observó un incremento de la tasa de respiración, motivado por la mayor carga aplicada al sistema. Posteriormente, los valores oscilaron en torno a $288 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$.

Bajo el THR de 7 horas, al contrario de lo esperado, se produjo un descenso en la tasa de respiración, siendo la media de $260 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Este hecho indicó que la tasa de respiración pudo no sólo estar determinada por la carga aplicada al sistema sino por otros factores que serán expuestos a lo largo de la discusión de los resultados.

En la última etapa, la actividad respiratoria de los fangos se incrementó, con un máximo de $430 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ siendo el promedio de $360 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$.

En líneas generales, la tasa de respiración mostró una evolución irregular, al igual que la observada para la concentración de biomasa en el sistema. Esta irregularidad, estuvo determinada por la variabilidad de la carga aplicada al sistema, motivada a su vez por el carácter real del influente empleado como alimentación y cuya DQO variaba de forma diaria. La Figura

IV.12 muestra la velocidad de carga orgánica, expresada como el cociente entre la DQO influente y el THR, aplicada al sistema.



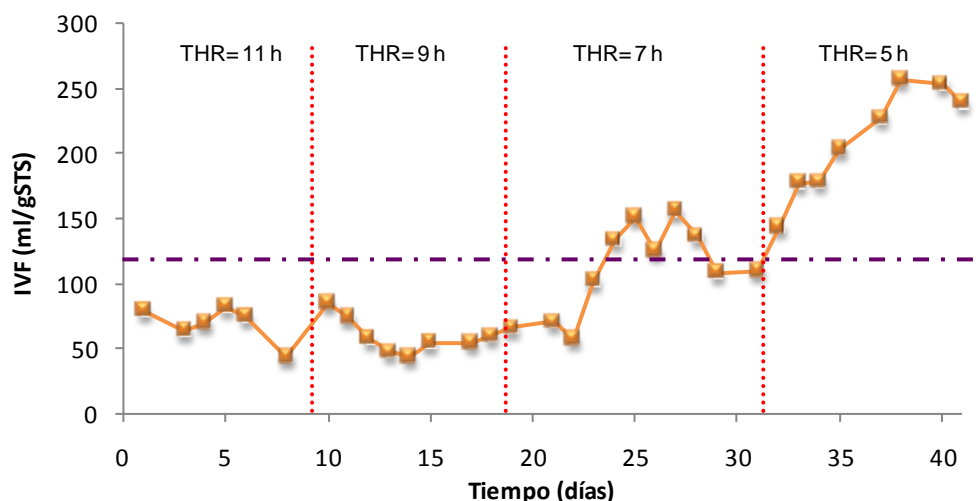
Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.12. Evolución de la velocidad de carga orgánica ($\text{mgDQO} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el sistema con alimentación real

A pesar de que en cada una de las etapas el caudal de alimentación al sistema se mantuvo invariable, el contenido en materia orgánica del agua residual varió constantemente propiciando continuos altibajos en la velocidad de carga orgánica observada en la Figura IV.12. En esta figura se observa cómo en la etapa 1, la VCO alcanzó puntualmente registros superiores a los de la etapa 3, siendo la diferencia en el caudal influente importante ($7,2 \text{ l/d}$ en la etapa 1, y 12 l/d en la etapa 3). Estas fluctuaciones de carga son típicas en las estaciones de depuración reales.

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

Entre las propiedades del fango que resultan de mayor interés en el control de la unidad de lodos activos, se encuentra la capacidad de sedimentación de los fangos, pues para la obtención de un efluente de alta calidad, se requiere una buena separación de las fases líquida (agua clarificada) y sólida (fangos activos) en el decantador secundario. En la Figura IV.13, se muestra la evolución del índice volumétrico de fangos a lo largo de los 41 días en que se desarrolló el presente ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo. La línea discontinua morada corresponde al valor de referencia (120 ml/gSTS)

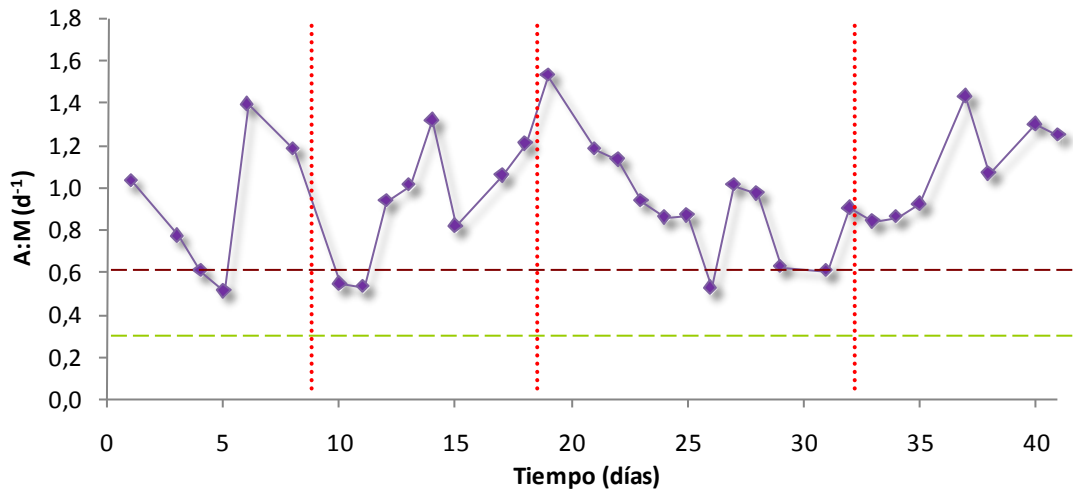
Figura IV.13. Evolución del IVF en el sistema con alimentación real bajo los distintos tiempos de residencia aplicados

Como se observa en la figura anterior, para los tiempos de residencia 11 y 9 horas, el índice volumétrico de lodos se situó por debajo del límite que en esta memoria se ha tomado como referencia de una buena decantación (120 ml/gSTS). Por ello, se puede concluir que durante las etapas 1 y 2 del ensayo, el fango del sistema presentó una buena capacidad de sedimentación, garantizándose de esta forma la correcta clarificación del efluente final.

Al comenzar la etapa 3 del ensayo (THR= 7 h), el IVF se mantuvo por debajo de los 120 ml/gSTS. Sin embargo, a partir del día 24 de ensayo este parámetro se incrementó superando el valor de referencia antes mencionado. No obstante, este aumento no fue alarmante, y los valores del índice se mantuvieron en torno a 150 ml/gSTS. Incluso en los últimos días correspondientes a esta etapa, el IVF volvió a situarse por debajo del valor de referencia. Estas variaciones en el IVF apenas tuvieron trascendencia en el decantador secundario, donde el manto de fangos se mantuvo invariable.

El aumento del caudal de alimentación a 0,7 l/h, supuso un incremento inmediato en el IVF, registrándose valores de más de 250 ml/gSTS (día 38 de ensayo). El manto de fangos en el decantador secundario se elevó de forma importante hasta situarse en las proximidades del vertedero de salida de las aguas clarificadas. De forma puntual, se registraron incluso pérdidas de fangos a través del efluente como se comentó en el apartado sobre la evolución de sólidos en suspensión. Estos hechos respondieron a un fenómeno de *bulking* filamentoso, que provocó la desestabilización del sistema y la pérdida de decantabilidad del fango.

Como se comentó en el capítulo II de Antecedentes Bibliográficos, el índice volumétrico de fangos, así como la velocidad zonal de sedimentación, están determinados por la relación A:M (días^{-1}) aplicada al sistema (Ramalho, 1991). Por ello, y a fin de analizar las causas que derivaron los problemas de decantación de los fangos, en la Figura IV.14 se presenta la evolución de este cociente a lo largo del ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo. Las líneas discontinuas verde y marrón corresponden a los valores 0,3 y 0,6 respectivamente

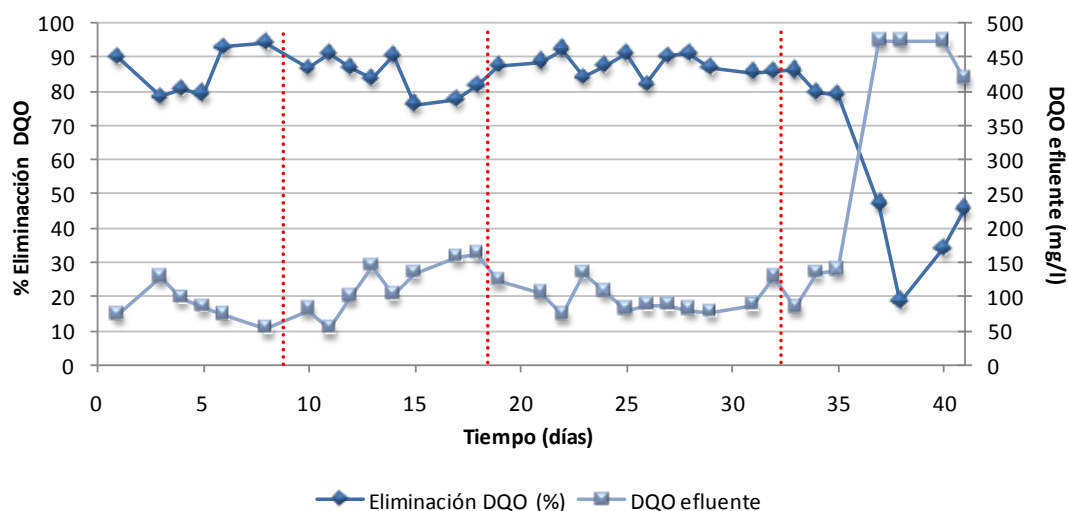
Figura IV.14. Evolución de la relación A:M (d^{-1}) en el sistema con alimentación real bajo los distintos tiempos de residencia aplicados

Tal y como se observa en la Figura IV.14, el cociente A:M se mantuvo en todo el ensayo por encima de $0,6 \text{ d}^{-1}$, límite superior del rango considerado óptimo para garantizar una buena decantación de los fangos. A pesar de ello, durante las etapas 1 y 2 del ensayo, los fangos presentaron una buena capacidad de sedimentación. Durante las etapas 3 y 4 donde se desarrolló el fenómeno de *bulking* filamentoso, los valores del cociente A:M no aumentaron con respecto a los de las primeras etapas. Por tanto, en este ensayo, el crecimiento masivo de bacterias filamentosas no estuvo controlado por la carga aplicada al sistema.

En cuanto a la evolución en sí de este parámetro, se observa que fluctuó diariamente de forma similar a la velocidad de carga orgánica ya comentada en párrafos anteriores (Figura IV.12). Los valores tan elevados tanto de la relación A:M (promedio de $0,96 \pm 0,28 \text{ d}^{-1}$) como de la VCO indicaron que el sistema de lodos activos trabajó en condiciones de “alta carga” en todas las fases del estudio, y no en “aireación prolongada” como se presuponía para las etapas 1 y 2 del ensayo con tiempos de residencia de 11 y 9 horas, respectivamente, cercanos a dichas condiciones. Por tanto, en el caso de emplear alimentación real como fuente de sustrato a la planta a escala de laboratorio, las condiciones de operación estuvieron determinadas por la DQO del agua residual influente y no por el caudal establecido.

Rendimiento de la depuración

La figura IV.15, muestra los valores de DQO obtenidos en el efluente del sistema y el rendimiento del proceso, expresado como porcentaje de eliminación de materia orgánica, observados a lo largo de los 41 días de ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.15. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el sistema con alimentación real

Como se observa en la figura anterior, el rendimiento del sistema en eliminación de materia orgánica fue muy elevado en las etapas 1, 2 y 3 del ensayo superando el 75% en todos los casos, y registrándose puntualmente rendimientos superiores al 90%. Es destacable la alta eficiencia del proceso teniendo en cuenta la alta carga aplicada al sistema. Durante estas fases, el valor de la DQO del efluente se mantuvo por debajo de 40 mg/l, muy por debajo del límite establecido por el Real Decreto-Ley 11/95 y la Directiva 91/271 referente al tratamiento de aguas residuales urbanas, indicando una alta calidad del efluente final obtenido en el sistema.

Por el contrario, al disminuir el tiempo de residencia a 5 h, y como consecuencia de la mala decantabilidad del fango observada en esta etapa, el rendimiento del sistema cayó hasta valores del 20%, que coincidieron con las pérdidas de fangos a través del efluente. En esta última etapa los valores de DQO del efluente registraron máximos de hasta 475 mg/l.

A tenor de los resultados obtenidos, el rendimiento del sistema estuvo determinado por la capacidad de sedimentación de los fangos y no por la propia actividad respiratoria de los microorganismos existentes en el fango activo, que durante la etapa 4 registró los valores máximos (figura IV.11). De esta forma, es muy probable que si la capacidad de sedimentación de los fangos no hubiera disminuido en la última etapa y se hubiera anulado la pérdida de

fangos a través del efluente, el rendimiento del sistema se hubiera mantenido en torno a los valores de las primeras etapas del ensayo.

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

La evolución de los parámetros físico-químicos empleados en el control y seguimiento del sistema de lodos activos así como el comportamiento del sistema en general pueden explicarse, en parte, por la evolución en la comunidad microbiana presente en el fango. Teniendo esto en cuenta, en este apartado se hace una breve descripción de las variaciones en la composición poblacional a lo largo del ensayo.

Inicialmente, el fango presentó una gran estabilidad, pues el sistema ya había sido estabilizado durante una etapa previa, cuyos resultados fueron expuestos en el capítulo IV.1.2. Esta estabilidad se reflejó en las poblaciones de microorganismos presentes en el fango activo. En efecto, durante los primeros días de este ensayo se observaron poblaciones de *Litonotus*, *Aspidiscas*, *Vorticellas*, grupos coloniales de *Epystilis*, *Euplotes*, nematodos (en abundancia) y algunas bacterias filamentosas (generando la estructura flocular). La presencia de nematodos, se tradujo en una tasa de respiración elevada en este ensayo en comparación con los valores observados durante la puesta en marcha del sistema. Durante la primera y segunda etapa, no se observaron cambios importantes en la composición de la comunidad microbiana, aunque disminuyó ligeramente la población de nematodos.

153

Conforme se aumentó el caudal de alimentación, se observó la aparición de algunos zooflagelados de pequeño tamaño, que indicaron una alteración en el sistema. No obstante, esta población no se desarrolló masivamente, incluso tuvo un carácter temporal, por lo que se puede considerar que el fango se adaptó rápidamente a las nuevas condiciones de operación. Respecto a las poblaciones de protozoos, se mantuvieron constantes durante la fase de THR de 7 horas, aunque el número de colonias de peritricos disminuyó con respecto a las etapas anteriores, ganando el efluente final en turbidez. También se observó un mayor crecimiento de los filamentos, coincidiendo con el incremento en el IVF (Figura IV.13). La Figura IV.16 muestra una fotografía al microscopio óptico del fango activo durante el fenómeno de *bulking* filamentoso.

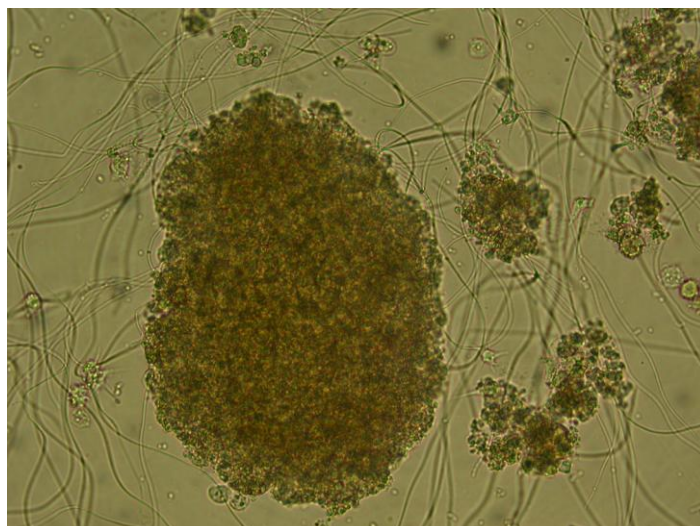


Figura IV.16. Crecimiento de filamentosas en el fango activo

Al incrementar otra vez el caudal de alimentación del sistema (etapa 4), aparecieron de nuevo los organismos uniflagelados de pequeño tamaño (zooflagelados) aunque en este caso la población se mantuvo hasta el final del ensayo. A parte de estos zooflagelados, se observaron igualmente *Vorticellas*, colonias de peritricos (con baja densidad de individuos por colonia), nematodos y algunos rotíferos. Las bacterias filamentosas comenzaron a abrir los flóculos mediante puentes interfloculares. A medida que avanzó esta etapa, el crecimiento de los filamentos se hizo desmesurado y el fango comenzó a adquirir un aspecto esponjoso. Al mismo tiempo, desapareció la diversidad biológica del fango activo, indicando una elevada inestabilidad del sistema.

En lo que respecta a la comunidad bacteriana, la siguiente tabla muestra los resultados del recuento de células totales y activas mediante doble tinción con los fluorocromos DAPI y CTC. En dicha tabla se observa que la concentración de células totales, teñidas con el fluorocromo DAPI, se mantuvo en el rango de $3 - 4 \cdot 10^{10}$ cel/ml a lo largo de todo el ensayo, con valores puntuales que se registraron fuera de este rango. Al estar trabajando con cifras con más de 10 dígitos, es posible afirmar que la cantidad de células totales no sufrió importantes variaciones en los 41 días en los que se desarrolló el ensayo.

Mayor variabilidad presentó la concentración de células activas. En líneas generales se observó que a medida que aumentó el caudal de alimentación, el número de células activas se incrementó en el reactor de aireación, obteniéndose un fango más “activo” a medida que se desarrolló el ensayo. De hecho, el porcentaje de células activas aumentó del 10% detectado en la etapa 1 del estudio, al 20% registrado en la etapa 4. Este incremento en la actividad del fango también se observó a través de la medida del SOUR (figura IV.11), aunque la tasa de respiración no sólo está determinada por la actividad bacteriana medida a través de la microscopía de epifluorescencia, sino que incluye el consumo de oxígeno por parte de los protozoos y metazoos del fango activo.

Tabla IV.5. Recuento de células totales y activas en el sistema alimentado con agua residual real

Etapas	Día de ensayo	Células totales-DAPI (x 10⁹ cel./ml)	Células activas-CTC (x 10⁹ cel./ml)	% Cél. Activas
Etapa 1	1	37,50	3,22	9
	3	32,27	3,53	11
	5	39,25	3,91	10
	8	38,58	3,89	10
Etapa 2	10	32,53	3,53	11
	13	31,63	4,16	13
	15	37,35	4,25	11
	17	28,89	4,18	14
Etapa 3	21	33,08	4,18	13
	26	31,04	5,07	16
	29	28,99	3,98	14
	32	29,74	4,86	16
Etapa 4	35	31,57	6,27	20
	37	34,31	5,61	16
	40	47,41	10,65	22

Un análisis similar al del SOUR, requiere la relación entre la concentración de células totales y el contenido en sólidos en suspensión. A través de la determinación de la concentración de la materia en suspensión, en concreto la materia volátil, se obtiene una estimación de la cantidad de biomasa en el fango activo, donde se incluyen todas las especies presentes en el mismo (incluidas las bacterias). La relación entre ambas variables no es directa, pues un incremento en la cantidad de materia volátil puede no deberse a un aumento de la concentración de células totales, y un incremento en células puede no provocar un incremento en materia en suspensión. En este ensayo, en concreto, durante las etapas 1, 2 y 3 se produjo un notable incremento de la materia volátil (Figura IV.8) que no se tradujo en un incremento notable de la cantidad de células totales en el fango. Por tanto, ambos parámetros aportan una información distinta pero igualmente útil en el análisis del comportamiento de los fangos activos.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

Para finalizar el estudio de la influencia del tiempo de retención hidráulica sobre el comportamiento del sistema de lodos activos alimentado con agua residual procedente de una EDAR, y a fin de profundizar en su efecto sobre el crecimiento de la biomasa, se realizó al terminar cada una de las etapas, un ensayo en discontinuo para obtener la tasa de crecimiento observado o rendimiento de utilización del sustrato, cuya metodología ha sido comentada en el capítulo III de Materiales y Métodos.

La siguiente tabla recoge las tasas de crecimiento asociada al consumo de materia orgánica (Y_{obs}) obtenidas en cada una de las etapas en las que se dividió el ensayo. La concentración de sólidos al inicio del ensayo en discontinuo se estableció en 500 mgSVS/l, para lo cual se empleo agua tamponada (tampón fosfato) como diluyente. La fuente de carbono empleada fue agua residual sintética, cuya composición se describe en la tabla III.3 de la presente memoria.

Tabla IV.6. Tasa de crecimiento observada en fangos con alimentación real bajo los distintos tiempos hidráulicos de residencia ensayados.

THR (h)	SVS _f -SVS ₀ (mg/l)	DQO _f - DQO ₀ (mg/l)	Y_{obs} (mgSVS/mg DQO)
11	30	68,20	0,44
9	40	86,95	0,46
7	50	101,37	0,49
5	60	114,89	0,52

Los valores obtenidos son algo inferiores a los recogidos en la bibliografía para un fango activo convencional (0,55-0,65 mgSVS/mgDQO, Ramalho, 1996).

En la Tabla IV.6 se aprecia como a medida que disminuyó el tiempo de residencia hidráulico en el tanque de aireación, la tasa de crecimiento microbiano aumentó. En la etapa 1, caracterizada por un tiempo de residencia de 11 horas, la tasa de crecimiento registrada fue 0,44 mgSVS/mgDQO consumida. Al disminuir el tiempo de residencia a 9 horas, la tasa de crecimiento se incrementó en un 5%. Este porcentaje aumentó en las etapas 3 y 4 del ensayo, en concreto, hasta un 11% y 18%, respectivamente.

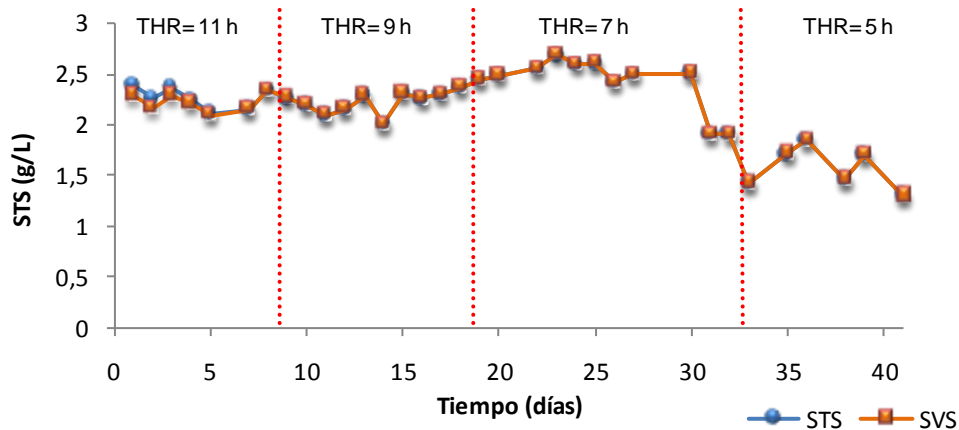
Estos incrementos en la tasa de crecimiento se tradujeron, en este ensayo, en una mayor producción de fangos y, consecuentemente, en mayores cantidades de fangos purgados diariamente del sistema, como se ha comprobado en apartados anteriores. La relación entre ambos parámetros se considera directa, de forma que un incremento en la tasa de crecimiento microbiano supone un incremento en la cantidad de fangos purgados del sistema.

IV.2.2. Evolución del sistema piloto alimentada con agua residual sintética bajo distintos tiempos hidráulicos de residencia.

Una vez analizado el sistema alimentado con agua residual real, se procede a analizar el comportamiento de la planta de lodos activos alimentada con agua residual sintética, manteniendo el esquema de presentación de los resultados.

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

La Figura IV.17 muestra la evolución de sólidos en suspensión en el reactor alimentado con agua residual sintética.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.17. Evolución de sólidos totales y volátiles en suspensión en el reactor alimentado con agua residual sintética

Como puede observarse, la concentración de sólidos en suspensión presentó una evolución bastante regular a lo largo de todo el ensayo, excepto en la etapa cuarta (THR = 5 h) en la que se observó un descenso análogo al registrado en el sistema alimentado con agua residual decantada (Figura IV.8). A diferencia de lo observado en este último, la cantidad de biomasa en el reactor no se alteró al modificar las condiciones de operación del sistema, es decir, no se produjo un incremento en la concentración de sólidos al incrementar la carga aplicada al mismo. Otra de las diferencias detectada con respecto al ensayo anterior, es que a partir del día 5 de ensayo, el porcentaje de materia volátil fue del 100% de la materia en suspensión en el reactor de aireación, mientras que en el sistema alimentado con agua residual real este porcentaje no pasó del 90%. La causa de este hecho se encuentra en la alta biodegradabilidad

que presenta el agua residual sintética y el nulo contenido en materia mineral, materia que se supone presente en el agua residual real.

Durante la primera etapa del estudio, caracterizada por un THR de 11 horas, la concentración promedio de sólidos en suspensión fue $2,26 \pm 0,10$ mgSTS/l (98% materia volátil). Al incrementar el caudal de alimentación al sistema y, por tanto, la carga orgánica aplicada al mismo, la concentración de sólidos se mantuvo invariable. El promedio de la etapa 2 fue $2,21 \pm 0,12$ mgSTS/l.

En la tercera etapa del estudio, en la cual el caudal de alimentación se incrementó a 0,5 l/h, la concentración de biomasa en el reactor aumentó gradualmente, hasta alcanzar un máximo de 2,69 g/l el día 23 de ensayo. Posteriormente, en torno al día 30, se produjo un fuerte descenso en la concentración de sólidos en suspensión. Este descenso se debió a una importante pérdida de fangos a través del efluente del sistema que a su vez estuvo motivado por un episodio de *bulking* filamentoso, cuyo comportamiento y causas serán descritos en apartados posteriores en este capítulo. La concentración de sólidos en el efluente superó los 100 mg/l en casos puntuales, inferior a las registradas en el sistema con alimentación real, aunque la pérdida de fangos se extendió más en el tiempo. Al final de la etapa 3, la cantidad de sólidos en suspensión descendió de los 2 g/l y siguió disminuyendo durante la última etapa, de forma que al final del experimento, el reactor biológico estaba prácticamente clarificado, siendo la concentración de biomasa de 1,3 g/l.

158

El comportamiento de los SS también se vio reflejado en la cantidad de fangos purgados del sistema. La Figura IV.18 muestra la tasa de purga de fangos del sistema alimentado con agua residual sintética a lo largo del ensayo.

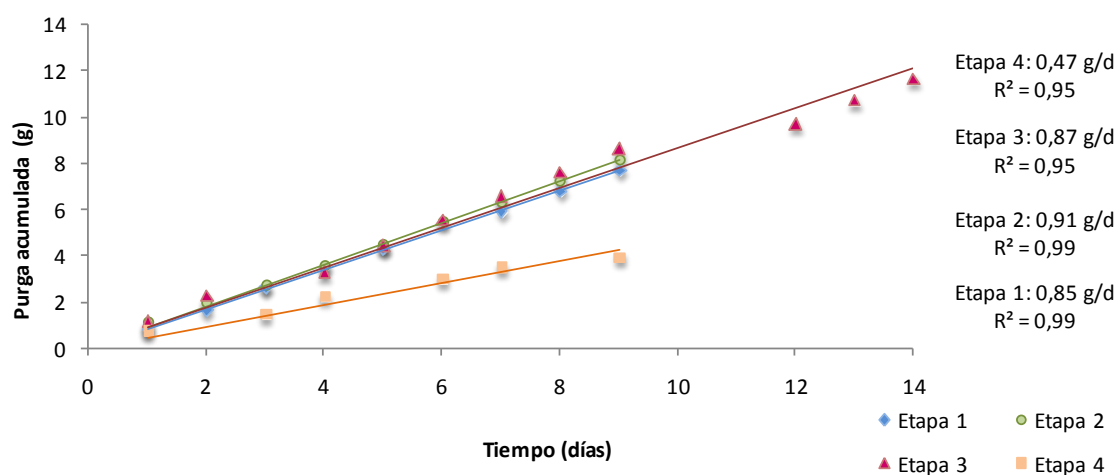


Figura IV.18. Cantidad de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas del sistema alimentado con agua residual sintética.

En la etapa 1, la tasa de eliminación de fangos en exceso del sistema fue de 0,85 g/d, un dato muy similar al obtenido bajo las mismas condiciones de operación en el sistema con agua

residual real (0,89 g/d). Por el contrario, para un THR de 9 horas (etapa 2), la purga de fangos se incrementó solamente un 7% con respecto al valor registrado en la etapa 1, mientras que en el sistema con alimentación real el aumento fue del 50% aproximadamente. En la etapa 3, la tasa media de producción de fangos en exceso fue de 0,87 g/d, un valor ligeramente superior al obtenido bajo THR de 11 horas e inferior al obtenido en la etapa 2 del ensayo. Esta tendencia en la producción de fangos en exceso en el sistema con alimentación sintética no coincide con la evolución *THR-producción de fangos* contemplada en el sistema con alimentación real, donde a menor THR, mayor es la tasa de purga de fangos. Si se analiza la Figura IV.18 detenidamente, desde el día 9 de ensayo al 12 no existen datos sobre cantidad de fangos purgados del sistema. Este periodo coincide con el inicio de la etapa de inestabilidad de la unidad, caracterizada por una baja capacidad de sedimentación de los fangos en el decantador secundario y una pérdida importante de lodos a través del efluente. Asimismo, el fenómeno del *bulking* provocó que la concentración de sólidos en la purga fuera menor que en etapas anteriores. Si se desprecian los datos de purga de fangos de los tres últimos días de la etapa 3 y se calcula la pendiente de la curva para los 9 primeros días de esta fase del estudio, periodo en el cual el sistema se mantuvo estable, la tasa de purga de fangos se incrementa a 0,94 g/d, un 11% superior al valor obtenido bajo THR de 11 horas (Figura IV.19).

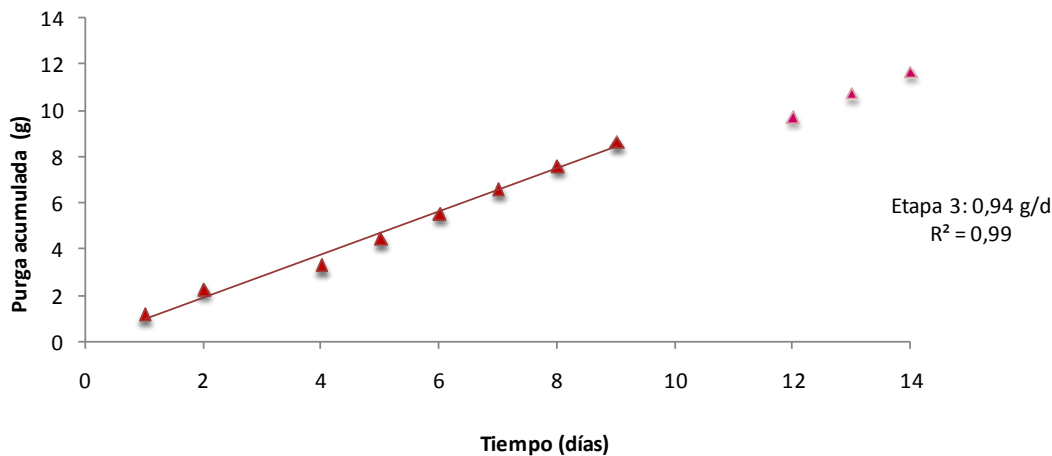
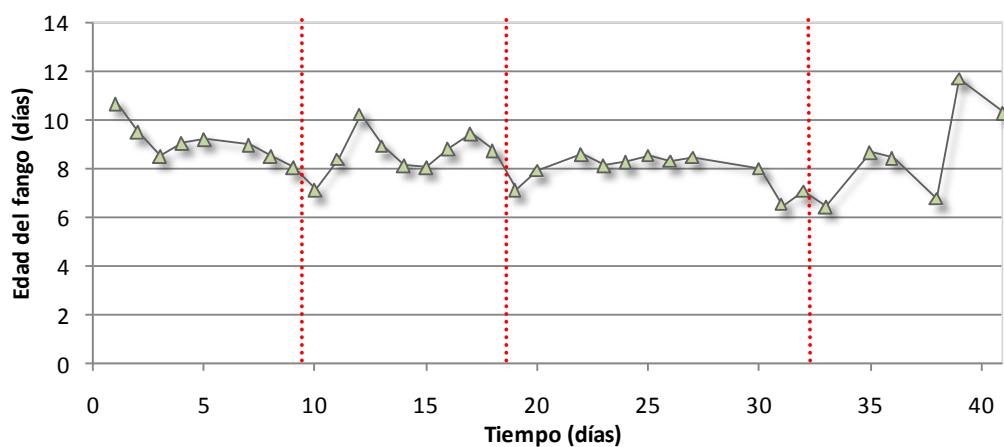


Figura IV.19. Cantidad de fangos purgados del sistema durante los 9 primeros días de la etapa 3

La inestabilidad del sistema, que se mantuvo hasta el final del ensayo en el día 41, provocó también que la tasa de purga de fangos bajo THR de 5 horas (Figura IV.18) fuera menor a lo esperada, concretamente, un 47% inferior al valor de la etapa 1, un valor nada lógico y, por lo tanto, no representativo.

Independientemente del comportamiento del sistema bajo condiciones no estables (*bulking* filamentoso), en general, la cantidad de fangos purgados del sistema alimentado con agua residual sintética fue muy inferior al obtenido en el sistema con alimentación real. El empleo de un sustrato fácilmente biodegradable, como lo es la alimentación sintética, y con un contenido mínimo en materia mineral puede ser la explicación de este hecho.

Para finalizar el análisis de los parámetros relacionados con los fangos, se presenta gráficamente la evolución de la edad de los lodos a lo largo del ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

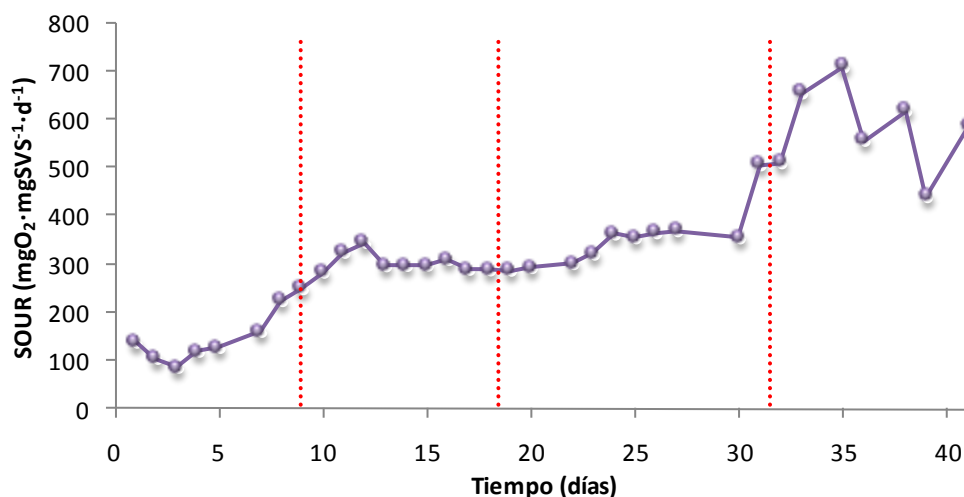
Figura IV.20. Edad del fango (días) en cada una de las etapas del sistema con alimentación sintética

A diferencia de lo ocurrido en el ensayo con alimentación real, la edad de fangos en el sistema alimentado con agua residual sintética tuvo un comportamiento más uniforme a lo largo del periodo de estudio, a excepción de los últimos días de ensayo en los que el sistema se desestabilizó por completo y el tiempo de retención celular fluctuó notablemente. Despreciando los valores de esta última etapa del ensayo, la edad de fangos promedio fue $8,5 \pm 0,90$ días.

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)

La Figura IV.21 muestra la evolución de la tasa específica de consumo de oxígeno de los fangos durante los 41 días en los que se desarrolló el ensayo.

Si bien la tasa de respiración presentó fluctuaciones diarias, al igual que lo observado en el ensayo con la alimentación real (Figura IV.11), las tendencias generales fueron más claras en este ensayo, observándose que, a grandes rasgos, al aumentar el caudal de alimentación al sistema la tasa específica de consumo de oxígeno se incrementó.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

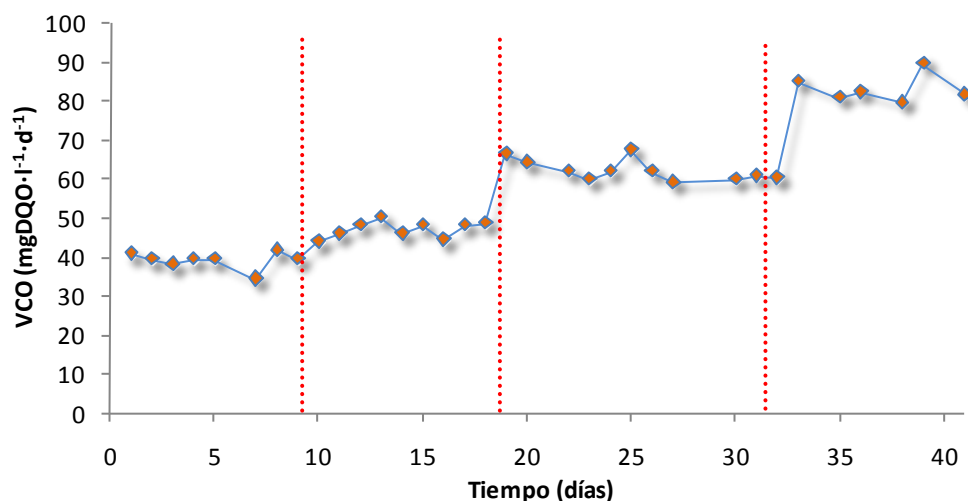
Figura IV.21. Evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el reactor con alimentación sintética

Durante la primera etapa del ensayo, la tasa de respiración se mantuvo en torno a $130 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, si bien al final de esta etapa se registraron valores cercanos a $200 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Este incremento pudo estar motivado por un mayor grado de aclimatación de los fangos a las condiciones impuestas en el ensayo. La clave pudo estar en la propia microbiología del fango, la cual será comentada en un apartado posterior.

Al disminuir el tiempo de residencia hidráulico a 9 horas, la tasa de respiración aumentó hasta estabilizarse en torno a $300 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. De igual forma, en la etapa 3 se volvió a registrar un aumento en la tasa de respiración de los fangos ($360 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). La desestabilización del sistema propiciada por el fenómeno de *bulking* filamentoso, a partir del día 30 de ensayo, se reflejó igualmente sobre la tasa de respiración del sistema, a través de un incremento notable en el consumo de oxígeno (puntas de $700 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Esta elevada tasa de respiración, propiciada por el desarrollo masivo de las bacterias filamentosas, se tradujo en una alta demanda de oxígeno por parte del fango activado y la necesidad de aumentar la aireación del sistema para mantener el nivel de oxígeno disuelto en el rango deseado (entre 2-4mg/l en este estudio).

Si se comparan las tasas de respiración obtenidas en el sistema con alimentación real y las correspondientes a la alimentación sintética, despreciando los resultados obtenidos durante la desestabilización del sistema, se observa que los valores obtenidos en el segundo de los casos son mayores bajo las mismas condiciones.

Para terminar este análisis, al igual que se hizo en el caso de la alimentación real, se presenta gráficamente la evolución de la velocidad de carga orgánica aplicada al sistema con alimentación sintética durante los 41 días en los que se prolongó la experiencia.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.22. Evolución de la velocidad de carga orgánica ($\text{mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) en el sistema con alimentación sintética

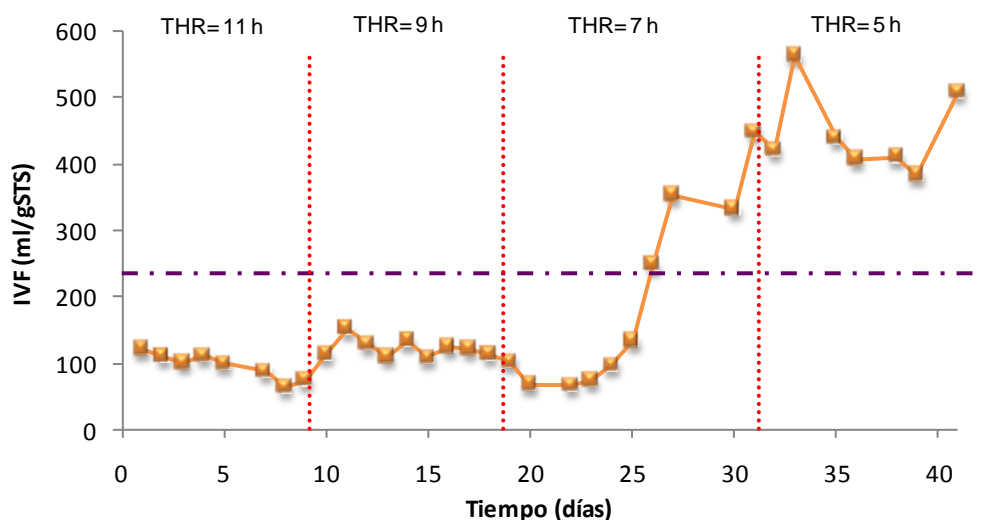
A diferencia de lo observado al emplear agua residual decantada procedente de la EDAR como alimentación del sistema piloto (ver Figura IV.12), la VCO ($\text{mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) aplicada al sistema a través del agua residual sintética fue más regular, con variaciones diarias de menor amplitud. Asimismo, se observa que existe una correlación directa entre VCO y THR en el reactor de aireación, de forma que al disminuir el THR (aumento del caudal de alimentación) la VCO aplicada al sistema aumentó, tal y como estaba previsto. Los valores medios obtenidos en cada una de las etapas en las que se dividió el ensayo fueron: $39,20 \pm 2,16 \text{ mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, para THR de 11 horas, $47,19 \pm 2,14 \text{ mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, para THR 9 horas, $62,31 \pm 2,76 \text{ mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ para THR de 7 horas y, finalmente, $83,35 \pm 3,67 \text{ mgDOQ} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ para 5 horas de tiempo de residencia.

La mayor regularidad de la carga orgánica aplicada al sistema, permitió que otros parámetros de control del sistema, como el SOUR, presentaran un comportamiento más uniforme a lo largo del ensayo.

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

Durante los experimentos descritos en el capítulo IV.1 de la presente memoria, correspondiente a la puesta en marcha del sistema de lodos activos a escala de laboratorio, se observó que al emplear agua residual artificial, el sistema tendía a la desestabilización mediante el desarrollo de un *bulking* extremo y la pérdida de calidad de los fangos. En este ensayo, se aplicaron las condiciones de operación bajo las cuales el crecimiento de bacterias filamentosas

parecía controlado (Q_r/Q_a superiores a la unidad). En la Figura IV.23 se muestra la evolución del índice volumétrico de fangos (ml/gSTS) durante el desarrollo del ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo. La línea discontinua morada corresponde al valor de referencia (120 ml/gSTS)

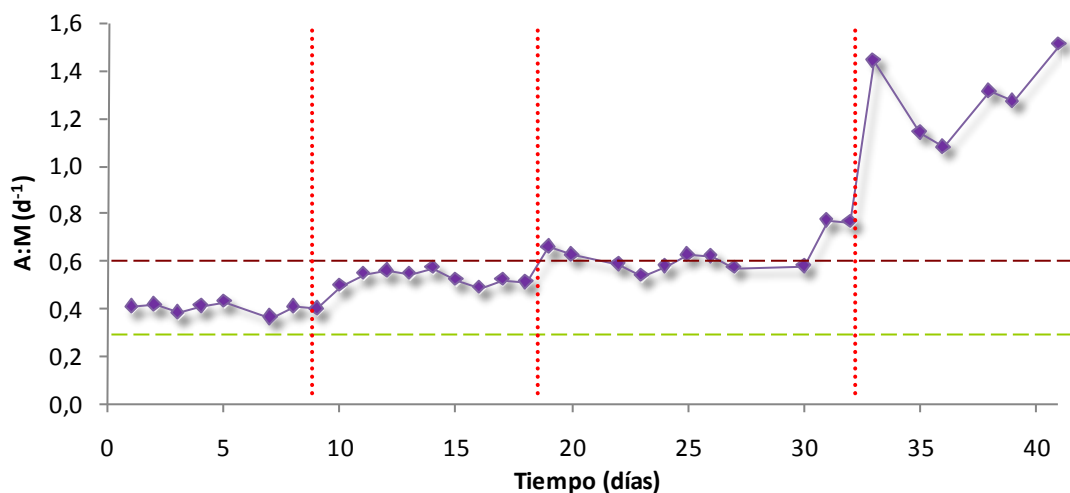
Figura IV.23. Evolución del IVF en el sistema con alimentación sintética bajo los distintos tiempos de residencia aplicados

Tal y como se observa en la Figura IV.23 los valores del IVF se mantuvieron, durante los primeros 25 días de ensayo, por debajo del valor de referencia (120 ml/gSTS) aunque muy cercanos a dicho valor. De hecho, puntualmente los días 11, 12 y 14, el IVF fue ligeramente superior a 120 ml/gSTS. Durante estos primeros días, la separación de los fangos del efluente clarificado fue buena en el decantador secundario, siendo despreciable la concentración de sólidos en suspensión en el efluente del sistema. Si se comparan estos resultados con los obtenidos en el sistema con alimentación real (Figura IV.13), se observa que en éste último los fangos presentaban una mejor capacidad de sedimentación durante el periodo en el que el sistema se mantuvo estable.

El día 25 de ensayo supuso un punto de inflexión en la evolución del IVF. A partir de este día el fango presentó una baja capacidad de sedimentación, todo ello propiciado por el crecimiento masivo de organismos filamentosos en el fango activo. Durante los días 26 a 30, el manto de fangos aumentó de nivel en el decantador secundario, si bien no se produjo pérdida de fangos a través del efluente, principalmente debido a que no se registraron fluctuaciones en la carga hidráulica del sistema. Al aumentar el caudal de alimentación a 0,7 l/h (THR de 5 horas), el manto de fangos volvió a aumentar de nivel permaneciendo prácticamente a escasos centímetros del vertedero de las aguas limpias. En este último periodo, sí se produjeron

importantes pérdidas de flóculos a través del efluente, como se ha comentado en apartados anteriores.

Respecto a la relación A:M (d^{-1}), en la Figura IV.24 se muestra su evolución a lo largo del ensayo.



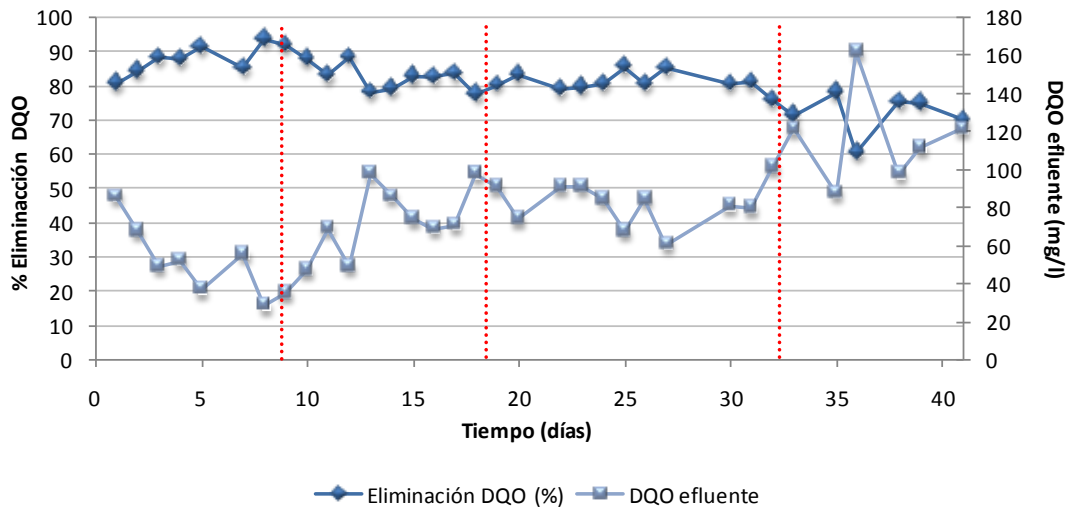
Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo. Las líneas discontinuas verde y marrón corresponden a los valores 0,3 y 0,6 respectivamente

Figura IV.24. Evolución de la relación A:M (d^{-1}) en el sistema con alimentación sintética bajo los distintos tiempos de residencia aplicados

Durante las primeras etapas del estudio, la relación A:M se mantuvo dentro del rango considerado como óptimo para garantizar la buena sedimentabilidad del fango, manteniéndose bastante regular. Esta regularidad estuvo motivada por la uniformidad tanto de la carga aplicada al sistema (ver Figura IV.22) como de la concentración de biomasa en el reactor (Figura IV.17). En la etapa 4 del ensayo, en la que se produjo el fenómeno de *bulking* filamentoso que llevó asociado una pérdida de sólidos en el reactor, la relación A:M se incrementó superando el valor de $1,4 \text{ d}^{-1}$. Este aumento pudo también potenciar el crecimiento masivo de organismos filamentosos.

Rendimiento de la depuración

La Figura IV.25 muestra el rendimiento del sistema (% reducción de DQO) y la DQO del efluente final a lo largo de los 41 días en los que se prologó el ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.25. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el sistema con alimentación sintética

Como se observa en la figura anterior, el porcentaje en eliminación de materia orgánica se mantuvo por encima del 75% establecido por la Directiva 91/271, prácticamente durante todo el ensayo, a excepción de la última fase del estudio en la que se produjo la pérdida de biomasa activa a través del efluente.

Nuevamente, la calidad del efluente final estuvo determinada por la capacidad de sedimentación de los fangos, al igual que ocurrió en el sistema con alimentación real. Mientras se garantizó la adecuada separación de los fangos en el decantador secundario, los valores de DQO en el efluente final fueron inferiores a los 125 mg/l establecidos por la legislación, como ocurrió en las etapas 1 y 2 y parte de la 3. En el momento en el que el manto de fangos se volvió inestable y comenzó la pérdida de fangos a través del efluente final, la calidad de éste disminuyó, registrándose valores de DQO de hasta 160 mg/l. No obstante, estas pérdidas no fueron tan pronunciadas como las observadas en el sistema alimentado con agua residual real (Figura IV.15).

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

Al inicio del ensayo, el fango se caracterizó por presentar una alta diversidad de poblaciones. En el mismo se observaron zooflagelados, algunos *Euplotes* y *Vorticellas* así como otros organismos sésiles filtradores de tipo colonial (*Epystilis*). También se observaron algunas filamentosas pero sin formar puentes interfloculares y actuando como estructurantes de los flóculos de bacterias. La presencia de zooflagelados indicó una cierta inestabilidad del sistema.

No obstante, el fango al inicio del ensayo se encontraba en una fase de aclimatación a las nuevas condiciones de operación caracterizadas principalmente por una fuente de carbono distinta a la existente en la estación depuradora de la que proceden los lodos, por lo que la inestabilidad detectada se puede considerar lógica.

Durante la segunda etapa, no se observaron importantes variaciones en la composición poblacional del fango activo. La presencia de organismos ciliados nadadores como *Aspidiscas*, *Litonouts* y *Euplotes*, confirmaron la mayor y mejor adaptación de los fangos a las condiciones impuestas en el laboratorio. Asimismo, se observaron algunos organismos sésiles bacteriófagos (tipo *Vorticella*) que dio como resultado un efluente con una baja turbidez. También se observaron algunos nematodos y rotíferos, indicadores de un mayor grado de estabilidad de los fangos. Las bacterias filamentosas se mantuvieron confinadas en la propia estructura de los flóculos.

Al comenzar la etapa 3 de ensayo, con el aumento de la carga orgánica aplicada al sistema, se observó un mayor crecimiento de las bacterias filamentosas que comenzaron a abrir la estructura de los flóculos los cuales adquirieron una forma alargada no compacta. Asimismo, comenzaron a aparecer algunas poblaciones de zooflagelados, indicadores de una incipiente inestabilidad de los fangos. No obstante, a parte de estas poblaciones, se observaron rotíferos y nematodos, poblaciones indicativas de un fango maduro, acompañadas de *Aspidiscas* y *Litonotus*. La coexistencia de poblaciones típicas de condiciones de baja y alta estabilidad indicó un periodo de transición en la composición del fango. Esta situación de indefinición se mantuvo hasta el día 25 de ensayo, día en el que las bacterias filamentosas comenzaron a crecer de forma incontrolada, creando puentes interfloculares y abriendo completamente la estructura de los flóculos. El fango adquirió la apariencia de nube de algodón, disminuyendo la capacidad de sedimentación del mismo. A pesar de que las filamentosas se posicionaron como población dominante en el fango, se observaron *Euplotes*, algunas colonias de organismos sésiles (tipo *Epystilis*) y organismos uniflagelados (zooflagelados). También se observaron algunos nematodos y rotíferos reptantes, aunque en menor densidad que en etapas anteriores. Esta composición microbiana se mantuvo hasta que se dio por concluido el ensayo el día 41.

La presencia tanto de bacterias filamentosas (por su densidad) como rotíferos y nematodos, favoreció que la tasa de consumo de oxígeno (SOUR) se incrementara durante las últimas etapas del estudio al ser estructuras multicelulares con una elevada demanda de oxígeno.

Una vez comentada la evolución de las poblaciones observables a través del microscopio óptico (x40), se analiza la evolución del contenido de bacterias totales y activas en el fango activo obtenidos mediante microscopia de epifluorescencia (doble tinción DAPI-CTC).

Tabla IV.7. Recuento de células totales y activas en el sistema alimentado con agua residual sintética

Etapas	Día de ensayo	Células totales- DAPI (x 10⁹ cel./ml)	Células activas- CTC (x 10⁹ cel./ml)	% Cél. Activas
Etapas 1	1	43,22	6,61	15
	5	44,71	7,83	18
	8	48,66	9,02	19
Etapas 2	10	49,24	9,37	19
	14	40,90	9,63	24
	17	50,00	9,83	20
Etapas 3	21	52,45	12,25	23
	28	51,08	10,57	21
	31	41,95	9,26	22
Etapas 4	35	37,56	7,52	20
	37	32,62	5,41	17
	40	28,65	3,92	14

La concentración de células totales y activas (cel/ml) en el fango activo presentó una evolución similar a la de los sólidos en suspensión en el reactor biológico (Figura IV.17). Así, al aumentar la carga orgánica aplicada al sistema, se observó un crecimiento, no tanto de la concentración de células totales, sino de la concentración de células activas. Durante la etapa 1, el porcentaje de células teñidas con el fluorocromo CTC pasó del 15% al 19%, principalmente como repuesta del mayor grado de aclimatación del fango a las condiciones de operación típicas del laboratorio. Al incrementar el caudal de alimentación (etapa 2) se produjo un incremento en el porcentaje de células activas, manteniéndose esta tendencia durante los primeros días de la etapa 3 del ensayo. El porcentaje de células activas se mantuvo por encima del 20% entre los días 14 y 35. Estos porcentajes fueron superiores a los observados en el sistema con alimentación real (Tabla IV.5), debido a la mayor biodegradabilidad del sustrato sintético como se ha ido comentando a lo largo de la exposición de los resultados.

La pérdida de fangos a través del efluente que caracterizó la etapa 4 de trabajo también se reflejó en la concentración de células totales y activas a nivel microscópico. De hecho, a partir del día 37, coincidiendo con el episodio de *bulking* filamentoso, la cantidad de células totales disminuyó notablemente en el reactor de aireación, reduciéndose igualmente el porcentaje de

células activas. En este caso, las células formadoras de flóculos se vieron desplazadas por las bacterias filamentosas.

Todas las variaciones observadas a nivel microscópico tuvieron, como se ha ido comentando en los apartados anteriores, su reflejo o respuesta a nivel macroscópico a través de los parámetros de seguimiento y control del proceso.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

Al igual que en el sistema con alimentación real, al finalizar cada una de las etapas en las que se dividió el ensayo, se tomó una muestra del fango alimentado con agua residual sintética y se realizó un ensayo en discontinuo para la obtención de la tasa de crecimiento observada (Y_{obs} , mgSVS/mgDQO_{consumida}). La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos.

Tabla IV.8. Tasa de crecimiento observada en fangos con alimentación real bajo los distintos tiempos hidráulicos de residencia ensayados.

THR (h)	SVS _f -SVS ₀ (mg/l)	DQO _f - DQO ₀ (mg/l)	Y_{obs} (mgSVS/mg DQO)
11	40	92,93	0,43
9	40	88,48	0,45
7	60	128,41	0,47
5	80	159,23	0,50

Tal y como reflejan los resultados expuestos en la tabla anterior, se observa que la menor tasa de crecimiento, expresada como el incremento de biomasa por consumo de materia orgánica (Y_{obs}), se obtuvo para el mayor tiempo hidráulico de residencia (THR= 11 h) aplicado sobre el sistema. En concreto, la tasa de crecimiento fue 0,43 mgSVS/mgDQO. Al incrementar la carga aplicada al sistema, la tasa de crecimiento del fango activo aumentó. En las etapas 2, 3 y 4, la tasa de crecimiento fue 0,45, 0,47 y 0,50 mgSVS/mgDQO, respectivamente. Estos valores fueron levemente inferiores a los obtenidos en el sistema alimentado con agua residual procedente de la EDAR (Tabla IV.6). Aún así, determinaron que la producción de fangos en el sistema alimentado con agua residual sintética fuera menor que en el sistema alimentado con agua residual real.

Estas tasas de crecimiento explican el aumento de la cantidad de fangos purgados obtenido al reducir el tiempo hidráulico de residencia, tal y como se mostró en las Figura IV.18 y IV.19, salvo para THR de 5 horas en el que el *bulking* filamentoso provocó la desestabilización del sistema, como se ha comentado en los apartados anteriores.

Los valores del Y_{obs} obtenidos en este ensayo, constituyen la referencia para los ensayos posteriores de aplicación de estrategias de reducción de la producción de fangos, especialmente en aquellos basados en minimizar la tasa de crecimiento microbiano.

IV.2.3. Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos en los sistemas alimentados con agua residual real y sintética operados bajo distintos tiempo de residencia hidráulica, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La mayor estabilidad del sistema se alcanzó para tiempos hidráulicos de residencia elevados (9-11 horas). Al aumentar el caudal de alimentación, disminuye el tiempo de residencia y el sistema se vuelve inestable. Esta inestabilidad se hizo patente a nivel microscópico a través del crecimiento masivo y no controlado de bacterias filamentosas dando lugar al fenómeno de *bulking*, con la consecuente pérdida de sólidos a través del efluente final y disminución del rendimiento depurativo del sistema.
- Se ha observado que a mayor tiempo de residencia en el tanque de aireación, la tasa de crecimiento de microorganismos fue menor. Asimismo, se ha comprobado que las tasas de crecimiento obtenidas en fangos con alimentación real fueron ligeramente superiores a las observadas en fangos aclimatados a la alimentación sintética, que se tradujo en una mayor producción de fangos en el primero de los sistemas con respecto al segundo.
- Relacionado con el punto anterior, se ha comprobado que a mayor tiempo hidráulico de residencia en el tanque de aireación menor fue la producción de fangos y menores las tasas de eliminación de estos residuos del sistema. La cantidad diaria de fangos purgados en el sistema alimentado con agua residual real y decantada fue notablemente superior a las obtenidas en el sistema alimentado con agua sintética. Este hecho estuvo motivado por el aporte de sólidos en suspensión no volátiles a través del agua real, que constituyeron parte de los fangos acumulados en el decantador secundario y que no estuvieron presentes en el agua sintética. Por ello, los incrementos en la tasa de purga de fangos en el sistema “real” al modificar el THR fueron más significativos que los observados en el sistema “sintético” (a mayor caudal, mayor aporte de sólidos en suspensión).
- En líneas generales, al aumentar el caudal de alimentación y la carga aplicada al sistema, la concentración de sólidos se incrementó en el tanque de aireación (la producción de fangos aumentó).
- El sistema con alimentación real presentó una mayor irregularidad en la evolución de los sólidos en suspensión y la tasa de respiración en comparación con los datos

obtenidos en el sistema con sustrato sintético. Esta mayor irregularidad estuvo motivada por las fluctuaciones en la carga orgánica aplicada, característica de las aguas residuales reales.

- Los fangos del sistema cuya alimentación fue agua residual decantada presentaron una mejor capacidad de sedimentación y menores valores del IVF. No obstante, el sistema alimentado con agua residual sintética, en condiciones estables, presentó una separación adecuada del manto de fangos del agua clarificada en el decantador secundario, no existiendo riesgo de evacuación de sólidos a través del efluente del sistema.
- A menores tiempos de residencia se detectó una mayor activación del fango activo que se reflejó en un incremento de la tasa de respiración (y consecuente aumento de la demanda de oxígeno disuelto) y un mayor porcentaje de células activas durante el recuento con microscopía de epifluorescencia.
- La eficacia depurativa del sistema se mantuvo constante para los tiempos hidráulicos de residencia 11, 9 y 7 horas, mientras que para tiempo hidráulico de residencia de 5 h, por lo motivos ya explicados, el rendimiento disminuyó notablemente por debajo del límite establecido por la Directiva 91/271/CEE.

Teniendo en cuenta estos resultados, en ensayos posteriores se decidió: (1) trabajar con altos tiempos hidráulicos de residencia, y (2) alimentar el sistema con agua residual sintética, ya que permitía controlar la carga aplicada al sistema, siendo ésta más regular, y aportando una mayor uniformidad a la evolución del sistema.

IV.3. Empleo de compuestos químicos para reducir la producción de lodos de depuradora.

IV.3.1. Introducción

La primera de las estrategias estudiadas para reducir la producción de fangos en exceso en el sistema de lodos activos, fue el empleo de compuestos químicos desestabilizadores del metabolismo microbiano, denominados *uncouplers* en la terminología anglosajona. Como ya ha sido comentado en el Capítulo II de Antecedentes, estos compuestos químicos son capaces de provocar el desacoplamiento de las rutas catabólicas y anabólicas, favoreciendo las primeras en detrimento de las reacciones de construcción de nuevo material celular. Estos compuestos actúan como disipadores de la energía metabólica y limitan el crecimiento de los microorganismos presentes en el fango activo. Su mecanismo de actuación se basa en la inhibición de la cadena respiratoria durante el proceso de **fosforilación oxidativa**, proceso que tiene lugar en las membranas de los organismos procariotas y en las mitocondrias de los organismos eucariotas. Para ello, estos compuestos inducen la permeabilización de la membrana y anulan el gradiente de H^+ del espacio intermembrana. Al no existir este gradiente, la ATP sintetasa no genera ATP a partir del ADP.

Desde el año 1943, se conoce la existencia de ácidos débiles liposolubles, en presencia de los cuales el transporte electrónico funciona a velocidad máxima, pero no se observa síntesis de ATP. Se produce, por tanto, un *desacoplamiento* entre las rutas de generación de energía y las reacciones que la consumen. Con la hipótesis quimiosmótica de Mitchell fue posible explicar el mecanismo de acción de estas sustancias que impiden el mantenimiento tanto del componente eléctrico como del osmótico.

Algunos de estos compuestos son el 3,3',4',5-tetraclorosalicilánida (TCS), el 2,4-dinitrofenol (DNP), el 2,4,5-triclorofenol, etc. También ciertos metales pesados, tales como el cobre o el zinc, son capaces de producir un efecto similar (Cabrero *et al.*, 1998), e incluso ciertas vitaminas o sus componentes pueden producir dicha disfunción metabólica (por ejemplo, el ácido fólico). El efecto inmediato de la disociación metabólica producida por este tipo de compuestos es una reducción de la tasa de crecimiento microbiano, que deriva en una menor producción de fangos en exceso.

No obstante, la adición de estos compuestos en el fango activo no se realiza al objeto de anular completamente las vías de obtención de ATP, pues supondría la inhibición completa de las rutas metabólicas y, por tanto, la muerte celular. La estrategia para la reducción del fango en exceso basada en agentes desacopladores pretende provocar una disociación de las rutas catabólicas y las anabólicas, mediante la alteración de la fosforilación oxidativa, pero sin afectar

al rendimiento de eliminación de materia orgánica y otros contaminantes que acompañan a las aguas residuales.

En el presente capítulo de la tesis, se aborda el estudio de esta estrategia en dos etapas. En la primera, se presentan los resultados de unos ensayos en discontinuo en los que se comparó la eficacia de varios agentes desacopladores en la limitación del crecimiento bacteriano. El resultado final de estos ensayos fue la selección de uno de los agentes desacopladores para su aplicación, en una segunda etapa, sobre un sistema de fangos activos a escala de laboratorio. En esta segunda fase, se evaluó el efecto global del desacoplador seleccionado sobre el funcionamiento del sistema y, concretamente, sobre la producción de fangos en exceso.

IV.3.2. Comparación del potencial de varios agentes desacopladores para limitar la producción de fangos en exceso.

Como se ha descrito anteriormente, varios son los compuestos que pueden actuar sobre la cadena respiratoria y producir el desacoplamiento de las rutas catabólicas y anabólicas en los microorganismos presentes en el fango activo. En este ensayo, cuatro compuestos químicos potencialmente desacopladores del metabolismo celular fueron testados: dos orgánicos y dos metales pesados. Los primeros fueron el **2,4-dinitrofenol (DNP)** y el **3,3',4',5-tetraclorosalicilanilida (TCS)**, dos sustancias protonóforos capaces de alterar la cadena de transporte de electrones. Los metales pesados estudiados fueron el **cobre** y el **zinc**. La selección de estos cuatro compuestos se hizo en base a los resultados de trabajos previos que serán mencionados a lo largo de la exposición de los resultados obtenidos.

A fin de comparar el potencial de cada uno de estos compuestos como limitantes del crecimiento celular y, consecuentemente de la producción de fangos en exceso, se realizaron unos ensayos sobre fangos activos en reactores *batch* (discontinuo). Cada uno de los agentes desacopladores fue evaluado en un ensayo independiente en el que se probaron tres concentraciones distintas del mismo y en los que se dispuso de un reactor de control o blanco. Las dosis añadidas fueron seleccionadas en base a resultados de trabajos previos: 20, 30 y 40 mg 2,4-DNP $\cdot l^{-1}$ (Ye *et al.*, 2003); 0,2, 0,5 y 0,8 mg TCS $\cdot l^{-1}$ (Chen *et al.*, 2000), 5, 10 y 15 mg Cu $\cdot l^{-1}$ y, finalmente, 5, 10 y 15 mg Zn $\cdot l^{-1}$ (Cabrero *et al.*, 1998). Las dosis fueron testadas por duplicado (8 reactores por ensayo) y cada uno de los ensayos se realizó un mínimo de dos veces.

El volumen de fangos inoculado en cada uno de los reactores fue de 1,75 l, procedentes de la cuba de aireación de la EDAR “El Trocadero”. Previo a la adición del agente desacoplador, los reactores se mantuvieron durante 2 horas en aireación para estabilizar la actividad respiratoria de los fangos. Justo antes de comenzar el ensayo, se añadió cada uno de los agentes desacopladores. La adición de los mismos se realizó en polvo, empleándose una balanza electrónica de precisión. Los reactivos empleados fueron: CuSO₄, ZnSO₄·7H₂O, 2,4-DNP y 3,3',4',5-TCS, todos ellos de calidad de laboratorio.

A continuación, 20 ml de agua residual sintética concentrada, con una DQO aproximada de 40.000 mg/l, se añadió a cada una de los reactores. Este momento se consideró el inicio del ensayo (tiempo 0) y se tomó muestra de cada uno de los reactores. La toma de muestras se repitió a los tiempos 1, 3 y 6 horas desde el inicio del ensayo. La duración del ensayo se limitó a 6 horas para evitar la pérdida de fangos asociada al decaimiento celular, doblando la duración del test propuesto por Chen *et al.* (2002). Los parámetros empleados para el seguimiento de los reactores fueron los siguientes:

- STS y SVS (mg/l)
- SOUR ($\text{mg O}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)
- pH

Asimismo, al inicio y final del ensayo se determinó el IVF (ml/gSTS), la DQO (mg/l) y la relación células activas/células totales mediante la tinción celular con los fluorocromos CTC y DAPI y determinación bajo microscopía de epifluorescencia. La tasa de crecimiento bacteriano, $Y_{x/s}$, se determinó como el cociente entre el incremento de sólidos volátiles en suspensión (mg SVS) y el consumo de materia orgánica (mg DQO) observado a las 6 horas de ensayo, evaluando de esta forma tan sólo el crecimiento bacteriano y evitando la fase de decaimiento o latencia. Todos los métodos empleados han sido descritos en el capítulo III de Material y Métodos.

La disociación del metabolismo celular producido por la presencia de los agentes desacopladores se obtuvo gráficamente mediante la representación de las curvas asociadas al metabolismo anabólico y catabólico. El metabolismo anabólico está representado por la tasa de crecimiento específico (μ , h^{-1}) y el catabolismo, por la tasa específica de eliminación de sustrato (q , h^{-1}). Ambos parámetros se obtuvieron dividiendo la variación de SVS y DQO soluble medida en los ensayos discontinuos, por la duración del ensayo (6 h) y la concentración media de SVS en el reactor. Al representar las curvas (μ/μ_0) y (q/q_0), donde μ_0 y q_0 son los valores de la tasa específica de crecimiento y eliminación de DQO en el reactor de control, se pueden distinguir dos situaciones:

- ambas curvas coinciden y transcurren paralelamente, indicando que no existe disociación de las rutas catabólicas y anabólicas, o
- las curvas se separan mostrando el desacoplamiento de ambas rutas. En este caso, la supremacía de las rutas catabólicas o anabólicas está determinado por la posición en el espacio que ocupen las curvas asociadas.

A la hora de evaluar la efectividad de estos compuestos como posibles agentes para la minimización de la producción de fangos se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

1. La adición del compuesto químico debe producir una reducción de la tasa de crecimiento bacteriano, $Y_{x/s}$.

2. El efecto del agente desacoplador sobre la tasa de respiración debe ser positivo o nulo, y nunca producir un descenso de la actividad respiratoria. De hecho, el desacoplamiento de las rutas catabólicas y anabólicas se puede detectar a través de un incremento tanto del oxígeno consumido como de la velocidad de consumo (Mayhew M. y Stephenson T., 1998).
3. El rendimiento depurativo, medido como eliminación de DQO (materia orgánica), no debe ser inhibido en presencia del compuesto desacoplador, es decir, que sólo las rutas anabólicas queden afectadas.

A continuación se presentan los resultados obtenidos para cada uno de los compuestos químicos testados.

Cobre

Como constituyentes presentes en ciertas aguas residuales podemos encontrar un número importante de metales pesados aunque su cuantificación sea a niveles de traza. Entre ellos, se pueden destacar el níquel, manganeso, plomo, cromo, cadmio, zinc, cobre, hierro y mercurio, entre otros, los cuales se encuentran catalogados en la Directiva Europea 96/61/CE IPPC (Ley 16/2002) como sustancias contaminantes que deben tenerse obligatoriamente en consideración para fijar valores límites de emisiones.

Algunos de los mencionados metales son imprescindibles para el normal desarrollo de la vida biológica, y su ausencia en cantidades suficientes podría limitar el crecimiento de los microorganismos y el rendimiento de los sistemas biológicos de depuración.

Las fuentes habituales de aguas residuales que contienen grandes cantidades de metales como el cromo, cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc proceden, principalmente, de limpieza de metales, recubrimientos, curados, refinado de fosfato y bauxita, generación de cloro, fabricación de baterías y teñidos. Los efectos que provocan sobre el medio ambiente son los siguientes: mortalidad de los peces, envenenamiento de ganado, mortalidad de plancton, acumulaciones en el sedimento de peces y moluscos.

Entre todos los metales citados, el cobre es un nutriente esencial que forma parte de muchos complejos enzimáticos implicados en el metabolismo celular. No obstante, en elevadas concentraciones, el cobre como otros metales pesados causan impacto negativo sobre los tratamientos biológicos convencionales, así como sobre los ecosistemas receptores.

En el presente ensayo se analizó el potencial del cobre para producir la disociación de las rutas de degradación de materia orgánica y obtención de energía, de las de construcción de nuevo material celular. Para ello, se presenta, en primer lugar, la tasa de crecimiento observado ($Y_{x/s}$) obtenida para cada una de las dosis del metal añadidas (Tabla IV.9).

Tabla IV.9. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de cobre añadidas

Concentración Cu (mg/l)	Incremento biomasa SVS _f - SVS ₀ (mg/l)	Consumo materia orgánica DQO ₀ - DQO _f (mg/l)	Y _{x/s} (mgSVS/mgDQO)
0	115	253,09	0,45
5	117	248,93	0,47
10	105	231,64	0,45
15	100	218,88	0,46

Tal y como se observa en la tabla anterior, bajo ninguna de las concentraciones de cobre estudiadas la tasa de crecimiento microbiana sufrió alteraciones significativas con respecto al valor obtenido en el reactor de control. El Y_{obs} permaneció prácticamente inalterable en todos los reactores, en torno a 0,45 mgSVS/mg DQO consumida.

A pesar de que aparentemente el cobre no ejerció ningún efecto en el crecimiento bacteriano, se observó que para las mayores dosis de cobre estudiadas el incremento de la biomasa fue algo menor que en el reactor de referencia. Al ser el consumo de materia orgánica igualmente menor en estos reactores, el cociente entre ambos parámetros dio el mismo resultado que en el reactor de control, aunque el análisis en profundidad de los datos refleja cierta inhibición tanto de las rutas catabólicas como anabólicas.

Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Cabrero A. *et al.* (1998) quienes para una concentración de cobre de 20 mg/l observaron una reducción de la tasa de crecimiento del 37%. No obstante, en el trabajo realizado por Cabrero A. *et al.*, la concentración de sólidos en el inóculo se situaba en torno a los 500 mg/l, de forma que la ratio Cu/STS se encontraba en el rango 0,05-0,8 mg Cu/ mg STS. En el presente estudio esta ratio fue bastante menor, situándose por debajo de 0,01 mg Cu/ mg STS debido a que la concentración de sólidos en el reactor fue de 2.000-2.500 mg/l. Asimismo, el trabajo desarrollado por Cabrero A. *et al.* no especifica el efecto del cobre sobre el rendimiento en eliminación de materia orgánica por lo que los resultados en este aspecto no son comparables.

En la Figura IV.26 se representan las curvas asociadas al metabolismo celular obtenidas para el cobre.

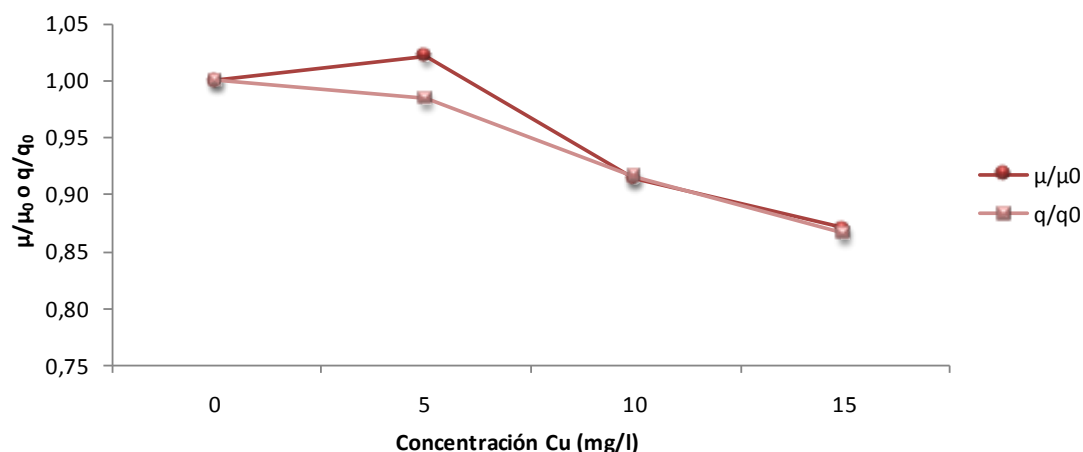


Figura IV.26. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del Cu

La adición de cobre no produjo el desacoplamiento de las curvas asociadas a las rutas catabólicas y las anabólicas, ya que las curvas (μ/μ_0) y (q/q_0) son coincidentes en líneas generales, tal y como se observa en la figura anterior. Sólo para la menor dosis de cobre añadida (5mg/l) se aprecia que la curva (μ/μ_0), que representa el anabolismo celular, se encuentra por encima de la (q/q_0) indicando una ligera activación de las rutas anabólicas frente a las catabólicas, efecto contrario al objetivo del presente estudio. De hecho, para 5 mgCu/l se observó un cierto incremento de la tasa de crecimiento. El acoplamiento de las curvas anabólica y catabólica es tan claro que presumiblemente un incremento en la dosis de cobre hasta alcanzar los ratios Cu/STS definidos por otros autores no hubiera provocado la disociación de las mismas.

Asimismo, se observa que ambas curvas presentaron una tendencia descendente al aumentar la dosis de cobre. Esta evolución indica que el cobre produjo la inhibición del metabolismo en general, ejerciendo un efecto tóxico sobre los microorganismos presentes en el fango activo. Este efecto negativo también se observó a través de los parámetros de control determinados durante el ensayo y cuyos valores medios quedan recogidos en la Tabla IV.10. En dicha tabla se observa que ninguna de las dosis de cobre produjo un incremento de la tasa de respiración específica. Por el contrario, las tres concentraciones de cobre estudiadas produjeron un descenso de la actividad respiratoria. Concretamente, para la dosis de 15 mg Cu/l el descenso en el SOUR con respecto al reactor de control fue del 14%. De igual manera, el porcentaje de eliminación de materia orgánica fue menor en los reactores con cobre que en el reactor de control. Así para la mayor concentración de cobre añadida, el descenso en el rendimiento depurativo alcanzó el 13,5 % al cabo de 6 horas.

Tabla IV.10. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de cobre estudiadas

Concentración (mg/l)	SOUR (mgO ₂ ·gSVS ⁻¹ ·d ⁻¹)	Eliminación de materia orgánica (%)	Células Totales (N° cel./ml)	Células Activas (N° cel./ml)	Cociente Células Activas/Totales
0	213,26 ± 35,22	55	3,72 x10 ⁹	9,29 x10 ⁸	0,25
5	207,55 ± 40,85	54	3,84 x10 ⁹	8,07 x10 ⁸	0,21
10	197,89 ± 43,37	51	3,93 x10 ⁹	5,10 x10 ⁸	0,13
15	183,62 ± 31,95	48	3,96 x10 ⁹	4,76 x10 ⁸	0,12

A nivel microscópico, el efecto tóxico del cobre también se puso de manifiesto ya que el porcentaje de células activas disminuyó considerablemente en los reactores expuestos a concentraciones de cobre igual o superior a 10 mg/l. Realmente, el número de células totales no sufrió importantes variaciones con respecto al reactor de control (3,72-3,96· 10⁶ cel/ml), pero el número de células que respiran (las activas) descendió notablemente al incrementar la dosis del metal.

A tenor de los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que en las condiciones de trabajo ensayadas el cobre no produce el esperado desacoplamiento entre el anabolismo y el catabolismo, observándose una inhibición generalizada de ambas rutas.

Zinc

El segundo de los metales analizados fue el Zinc. Al igual que el cobre, se estudiaron tres concentraciones (5, 10 y 15 mg/l) a fin de comprobar el potencial de este metal como agente limitante de la producción de fangos en exceso. La concentración de sólidos en suspensión en el reactor fue de 2.500 mg STS/l aproximadamente, por lo que la cantidad de zinc disponible por unidad de biomasa fue nuevamente inferior a 0,01 mg Zn/ mg STS.

El efecto de dichas concentraciones de zinc sobre la tasa de crecimiento observado, $Y_{x/s}$, queda recogido en la Tabla IV.11.

Tabla IV.11. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de zinc añadidas

Concentración Zn (mg/l)	Incremento biomasa SVS _f - SVS ₀ (mg/l)	Consumo materia orgánica DQO ₀ - DQO _f (mg/l)	Y _{x/s} (mgSVS/mgDQO)
0	120	271,91	0,44
5	120	266,72	0,45
10	80	266,91	0,30
15	90	251,91	0,36

A pesar de que la ratio Zn /biomasa fue baja, la adición de zinc al fango sí produjo un descenso en el Y_{x/s}, al contrario de lo observado para el cobre. Concretamente, para 10 mgZn/l el Y_{x/s} fue de 0,30 mgSVS/mgDQO, un 32% menor al valor de referencia (0,44 mgSVS/mgDQO). En la tabla se comprueba que para esta dosis de zinc el incremento en la concentración de sólidos volátiles al cabo de las 6 horas que duró el ensayo fue de 80 mgSVS/l que, teniendo en cuenta el volumen del reactor, se traduce en un incremento de biomasa de 140 mgSVS. En el reactor de referencia el incremento de biomasa fue de 210 mgSVS, un 33% mayor que en el reactor con 10 mgZn/l. Respecto al porcentaje de eliminación de materia orgánica en dicho reactor, aunque disminuyó con respecto al control, el descenso observado fue tan sólo del 2%, un resultado insignificante frente a la gran reducción en la síntesis de nueva biomasa observada. Por lo tanto, al hacer un balance simple entre el descenso en la producción de fangos en el reactor y el porcentaje de eliminación de materia orgánica, el resultado es positivo.

Al aumentar la concentración de zinc en el medio a 15 mg/l, el descenso en la tasa de crecimiento observado fue menor, concretamente un 19%. En este caso, el incremento de biomasa registrado en el reactor fue similar al determinado para la concentración de 10 mgZn/l (157,25 mgSVS, un 25% inferior al control). El consumo de biomasa a las 6 horas sí sufrió un mayor descenso, en concreto un 7% con respecto al reactor de referencia, lo que se tradujo en una mayor tasa de crecimiento observada.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que el zinc es capaz de limitar el crecimiento de los microorganismos presentes en el fango activo, sin afectar notablemente al rendimiento del sistema.

La Figura IV.27 muestra la evolución de las tasas específicas de crecimiento y eliminación de sustrato.

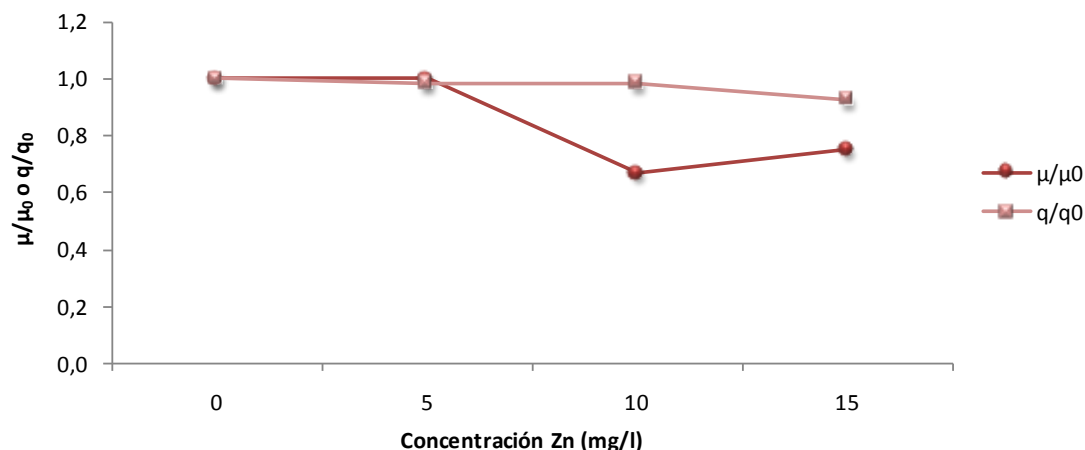


Figura IV.27. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del Zn

Se observa que para concentraciones de Zinc inferiores a 5 mg/l, el anabolismo y catabolismo se encuentran perfectamente acoplados. Al aumentar la dosis del metal se produjo la disociación de ambas rutas, manteniéndose prácticamente constante el nivel catabólico pero disminuyendo notablemente la tasa de crecimiento específico. La máxima disociación se obtuvo para 10 mg Zn/l, corroborando los resultados obtenidos a través de la tasa de crecimiento. Por encima de esa concentración parece que ambas curvas tienden nuevamente a acoplarse, como resultado de una ligera inhibición del anabolismo celular. Este hecho propició que no se aumentara la concentración de este metal en un ensayo posterior, ya que para concentraciones superiores a 15 mgZn/l se han descrito efectos tóxicos sobre el metabolismo en general.

En la Tabla IV.12 se recogen los resultados del seguimiento realizado sobre cada uno de los reactores. Según los datos recogidos en la misma, el SOUR sufrió un descenso al aumentar la concentración de zinc a 10 y 15 mg Zn/l. Este descenso fue del 2 y 7% respectivamente, por lo que el desacoplamiento entre las rutas catabólicas y anabólicas observado a través de la representación de las curvas de la figura Figura IV.27, no quedó reflejado en un incremento de la tasa de respiración, tal y como propusieron Mayhew M. y Stephenson T., 1998. No obstante, el descenso en la actividad respiratoria no fue significativo. Del mismo modo, el porcentaje de eliminación de materia orgánica se vio levemente afectado por la presencia del metal en el medio, alcanzándose un descenso también del 7% para la dosis 15 mgZn/l. Estos resultados difieren de los obtenidos por Lui (2000) quien observó un incremento de la tasa de eliminación de glucosa al incrementar la ratio Zn/biomasa. Igualmente, el recuento de células activas y totales apuntó una inhibición de la actividad respiratoria bajo las mayores dosis de zinc estudiadas.

Tabla IV.12. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de zinc estudiadas

Concentración (mg/l)	SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Eliminación de materia orgánica (%)	Células Totales (N° cel./ml)	Células Activas (N° cel./ml)	Cociente Células Activas/Totales
0	230,72 \pm 38,97	59	3,57x10 ¹⁰	6,78 x10 ⁹	0,19
5	233,88 \pm 34,76	58	3,65 x10 ¹⁰	6,21 x10 ⁹	0,17
10	225,49 \pm 41,51	58	3,58 x10 ¹⁰	6,44 x10 ⁹	0,18
15	213,83 \pm 28,37	55	3,89 x10 ¹⁰	6,23 x10 ⁹	0,16

A tenor de los resultados obtenidos, el zinc podría ser empleado como limitante de la producción de fangos en exceso en un sistema biológico de depuración. No obstante, la aplicación de este agente debería realizarse con extremo cuidado ya que concentraciones superiores a las estudiadas pueden tener un efecto nocivo sobre los microorganismos presentes en el sistema. Igualmente, la bioacumulación de este metal pesado en el reactor aerobio podría producir, a largo plazo la inhibición generalizada del metabolismo celular y, por tanto, la pérdida de la capacidad depurativa del sistema. El vertido del efluente final al medio también podría provocar la liberación de este compuesto a las masas de aguas receptoras y su acumulación en el sedimento con los consecuentes efectos ecotoxicológicos asociados al Zinc.

2,4-dinitrofenol (2,4-DNP)

Los dinitrofenoles son una clase de sustancias químicas que no ocurren de forma natural en el medio ambiente, y por lo tanto se consideran sustancias xenobióticas. Existen 6 dinitrofenoles diferentes. El dinitrofenol comercialmente más importante, 2,4-dinitrofenol (DNP), es un sólido amarillo sin olor. Se usa para fabricar tinturas, preservativos para madera, explosivos, sustancias para controlar insectos y otros productos químicos, tal como revelador de fotografías. El DNP se usó en píldoras para adelgazar en los 1930s, debido a su potencial para desajustar el metabolismo celular; sin embargo, tal uso fue prohibido en 1938.

El DNP es un desacoplador o protonóforo, ya que anula tanto el componente eléctrico como el osmótico Δp , en otras palabras, tiene la capacidad de aislar el flujo de los electrones y el bombeo de H^+ de la síntesis de ATP. Al no producirse el ATP, debe metabolizarse mucho más azúcar para suplir las necesidades de energía.

Con un pK_a de 4,1 el 2,4-dinitrofenol (DNP) se reparte entre las formas ácida y básica conjugadas. Tanto una como la otra pueden atravesar fácilmente la membrana, de manera que, con un Δp con la orientación que se presenta en el esquema, la forma predominante fuera (protonada) entrará y una vez dentro se desprotonará, lo que hace disminuir el ΔpH , y la salida de la forma más abundante dentro (desprotonada y por tanto con carga negativa) anulará el $\Delta\phi$.

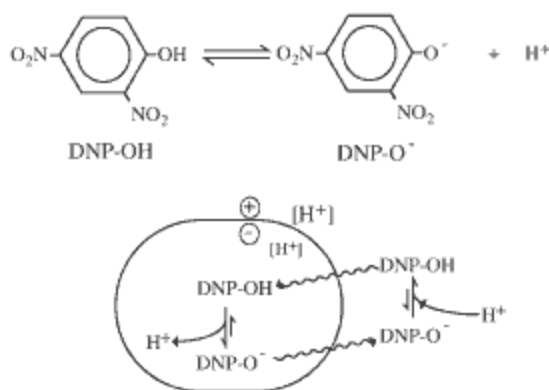


Figura IV.28. Mecanismo de acción del 2,4-DNP

El DNP pasa al aire, al agua y al suelo durante su producción y uso y puede formarse por la reacción entre otros productos químicos en el aire, aunque también puede pasar al medio ambiente a consecuencia de escapes de vertederos o de depósitos o de derrames accidentales durante su fabricación o transporte.

Es poco soluble en agua (5,6 g/l a 18°C) y no se evapora fácilmente al aire. Tiene propiedades ácidas ($pK_a = 4,03$) y su peso molecular es 184 g/mol. Puede ser degradado lentamente en el agua y el suelo por microorganismos o por reacción con otras sustancias químicas.

Según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), el DNP se adhiere a las partículas en el agua, por lo que mayoritariamente se encuentra en el sedimento.

Las dosis estudiadas en este ensayo fueron 20, 30 y 40 mg DNP/l (Ye *et al.*, 2003). El efecto de este compuesto sobre la tasa de crecimiento bacteriano queda resumido en la Tabla IV.13.

Como puede observarse en la Tabla IV.13, sólo la dosis correspondiente a 30 mg DNP/l produjo un descenso de la tasa de crecimiento con respecto al control. El $Y_{x/s}$ para esta concentración de DNP fue de 0,38 mgSVS/mgDQO, mientras que para el reactor de referencia la tasa de crecimiento fue de 0,44 mgSVS/mgDQO. El descenso observado fue del 14% aproximadamente. La producción de fangos al cabo de 6 horas en este reactor se limitó a 192,5 mgSVS, frente a los 227,5 mgSVS medidos en el reactor de referencia. El consumo de materia orgánica apenas se vio afectado (un 2% inferior al valor de referencia).

Tabla IV.13. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de DNP añadidas

Concentración DNP (mg/l)	Incremento biomasa SVS _f - SVS ₀ (mg/l)	Consumo materia orgánica DQO ₀ - DQO _f (mg/l)	Y _{x/s} (mgSVS/mgDQO)
0	130	293,13	0,44
20	150	303,16	0,49
30	110	286,88	0,38
40	130	249,62	0,52

Para las dosis 20 y 40 mg DNP/l la tasa de crecimiento experimentó un incremento del 12% y 17%, respectivamente. En el primer casos, este incremento responde a un aumento en la cantidad de sólidos (262,5 mgSVS) con respecto a la cantidad de nueva biomasa generada en el reactor de control. Además, en este mismo reactor, el consumo de materia orgánica al finalizar el test de 6 horas, fue mayor al observado en el reactor de referencia. Por tanto, la dosis 20 mgDNP/l produjo una activación tanto de las rutas catabólicas como de las de síntesis de nuevo material celular. Este efecto potenciador del DNP sobre el metabolismo no había sido descrito en anteriores trabajos, y es contrario al objeto del presente estudio.

Por el contrario, el incremento en la tasa de crecimiento observado para la dosis 40 mg/l de DNP no se debió a un aumento de la biomasa generada en dicho reactor. Al cabo de las 6 horas que duró el ensayo, la cantidad de sólidos volátiles generada en este reactor fue la misma que la determinada en el reactor de referencia. El consumo de materia orgánica sí experimentó un importante descenso con respecto al control, provocando que la Y_{x/s} alcanzara los 0,52 mgSVS/mgDQO. Este descenso podría ser debido a la inhibición de las rutas catabólicas y, por tanto, debería reflejarse en la actividad respiratoria de los fangos (SOUR y % células activas). La Tabla IV.14 muestra los resultados del control realizado sobre los reactores que constituyeron el ensayo de DNP.

Al analizar los datos de actividad respiratoria recogidos en la Tabla IV.14, se observa que ninguna de las concentraciones de DNP ensayadas produjo un descenso en la tasa de respiración, sino todo lo contrario, alcanzándose activaciones del 20% en los tres casos. El recuento de células totales y activas reflejó que el porcentaje de actividad se incrementó en un 6% y 29% en los reactores con 20 y 30 mgDNP/l, permaneciendo constante la proporción de células activas en el reactor con 40 mgDNP/l con respecto al valor obtenido en el control.

Tabla IV.14. Características medias de los fangos bajo las distintas dosis de 2,4-DNP estudiadas

Concentración (mg/l)	SOUR (mgO ₂ ·gSVS ⁻¹ ·d ⁻¹)	Eliminación de materia orgánica (%)	Células Totales (Nº cel./ml)	Células Activas (Nº cel./ml)	Cociente Células Activas/Totales
0	134,92 ± 30,52	64	2,09 x10 ¹⁰	3,55 x10 ⁹	0,17
20	161,19 ± 25,48	66	2,13 x10 ¹⁰	3,83 x10 ⁹	0,18
30	164,68 ± 38,41	63	2,19 x10 ¹⁰	4,82 x10 ⁹	0,22
40	162,49 ± 39,12	55	1,33 x10 ¹⁰	2,26 x10 ⁹	0,17

En cuanto a la eficiencia en eliminación de materia orgánica, sólo el reactor con 20 mgDNP/l reflejó un incremento con respecto al valor del reactor de referencia, mientras que en los reactores con 30 y 40 mgDNP/l se observó un descenso del 2% y 15% respectivamente. Estos descensos en el porcentaje de eliminación de DQO también fueron identificados por Chen G-W *et al.* (2006) para concentraciones de DNP superiores a 5 mg/l, si bien es ese trabajo los porcentajes de inhibición observados fueron mayores a los obtenidos en el presente estudio.

A tenor de los resultados obtenidos se confirma que la adición de 20 mgDNP/l produjo un incremento del metabolismo de los microorganismos presentes en el fango activo. Asimismo, la dosis de 30 mgDNP/l, para la cual se observó un descenso en la tasa de crecimiento, no tuvo un efecto negativo sobre la actividad respiratoria de los fangos y apenas produjo un descenso del rendimiento del sistema. Por último, el incremento del SOUR observado para 40 mgDNP/l no explica el descenso detectado en el rendimiento del sistema. Si dicha concentración de DNP no afectó a las rutas catabólicas ya que el SOUR se incrementó con respecto al control, no debería haberse producido un descenso en el consumo de materia orgánica. Por tanto, debió producirse un aporte extra de materia orgánica para que, al calcular el rendimiento del sistema, este fuera menor que en el control, ya que la concentración de DQO de partida fue la misma en ambos reactores. Esta materia orgánica extra pudo proceder de la lisis de algunas de las células presentes en el fango activo como consecuencia del estrés provocado por la presencia de DNP a altas concentraciones. Al comprobar los datos de células totales y activas se observa que se produjo un descenso en la concentración de ambos tipos de células con respecto a los valores obtenidos en el reactor de control. Asimismo, se observó un descenso con respecto al recuento realizado al comienzo del test (tiempo 0) en el que la concentración de células totales fue de 2,01x 10¹⁰ cel./ml, un 34% superior a la determinada en el reactor con 40 mg DNP/l transcurridas las 6 horas del ensayo.

Para finalizar, se presenta la evolución de la tasa de crecimiento específico y la tasa específica de eliminación de materia orgánica para las concentraciones de DNP estudiadas.

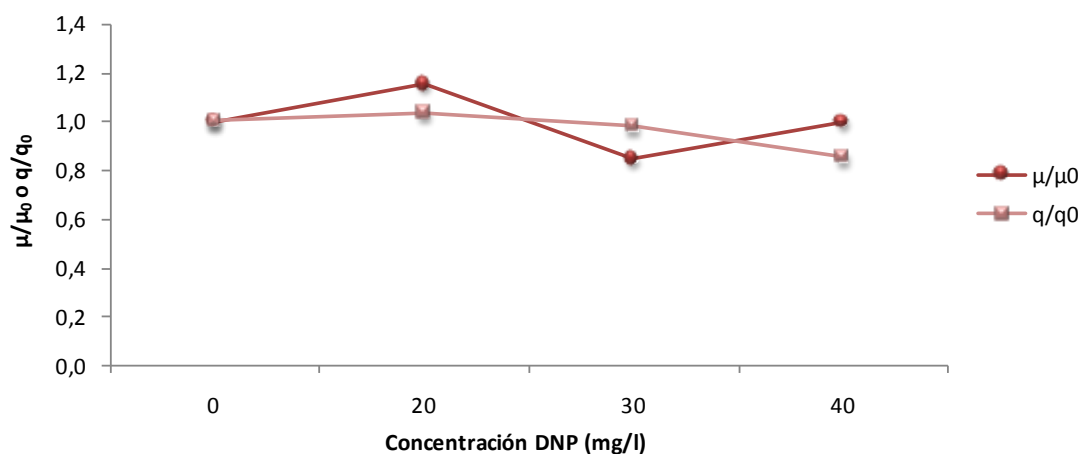


Figura IV.29. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para la adición del DNP

Tal y como se observa en la figura anterior, las curvas representativas del metabolismo celular presentaron dos puntos de corte pudiéndose diferenciar dos zonas con comportamiento metabólico distinto. Sólo cuando la dosis de DNP añadida fue de 30 mg/l, la curva asociada al metabolismo catabólico se situó por encima de la curva anabólica indicando la potenciación de las rutas de degradación de materia orgánica sobre las de construcción de nuevo material celular. Para las otras dos dosis de DNP esta tendencia se invirtió, si bien no podemos afirmar que la adición de 40 mg DNP/l produzca realmente la activación de las rutas anabólicas a tenor de los resultados comentados en párrafos anteriores.

Como dato curioso cabe destacar que el sobrenadante de los reactores a los que se adicionó el DNP presentó una coloración amarillenta, la cual desaparecía al disminuir el pH del medio mediante la adición de H_2SO_4 .

3,3',4',5-tetraclorosalicilanilida (TCS)

El último de los compuestos químicos estudiados para limitar la producción de fangos fue el 3,3',4', 5- tetraclorosalicilanilida, TCS en adelante (CAS 1154-59-2).

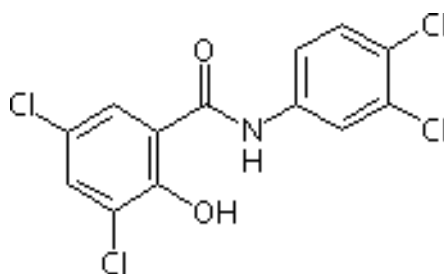


Figura IV.30. Molécula de 3,3',4',5-tetraclorosalicilanilida (TCS)

Este compuesto es un ácido débil lipofílico, que en función de la concentración puede potenciar o inhibir el funcionamiento de la bomba de Ca^{2+} asociada al complejo ATP-asa. El TCS se emplea como antiséptico y antifúngico que se adiciona en cosméticos, jabones, y otros productos similares, siendo el agente descoplador más inocuo de los testados en este ensayo.

Las concentraciones añadidas fueron 0,2, 0,5 y 0,8 mg/l, las mismas que emplearon Chen *et al.* (2000, 2002) en estudios previos. La Tabla IV.15 muestra las tasas de crecimiento obtenidas para el reactor de control y cada una de las dosis de TCS testadas.

Tabla IV.15. Tasas de crecimiento microbiano observadas para las dosis de TCS añadidas

Concentración TCS (mg/l)	Incremento biomasa $\text{SVS}_f - \text{SVS}_0$ (mg/l)	Consumo materia orgánica $\text{DQO}_0 - \text{DQO}_f$ (mg/l)	$Y_{x/s}$ (mgSVS/mgDQO)
0	120	238,46	0,50
0,2	120	256,77	0,46
0,5	90	261,01	0,35
0,8	90	269,35	0,34

Como puede observarse en la tabla anterior, a medida que aumentó la concentración de TCS en el reactor se obtuvo una menor tasa de crecimiento. La máxima reducción se detectó en el reactor con 0,8 mgTCS/l en el que el $Y_{x/s}$ fue de 0,34 mgSVS/mgDQO, un 32% inferior al reactor de referencia. Considerando el volumen del reactor (1,75l), el incremento de biomasa en dicho reactor al finalizar el ensayo fue de 157,5 mgSVS, al igual que el observado para 0,5 mgTCS/l. En los reactores control y 0,2 mgTCS/l, la cantidad de nueva biomasa generada en el test de 6 horas fue de 210,0 mgSVS, un 24% superior a la producida en los reactores con 0,5 y 0,8 mgTCS/l. Estos resultados confirman la tendencia observada en los trabajos

desarrollados por Chen *et al.* (2002) quienes obtuvieron una reducción de aproximadamente el 40% en la tasa de crecimiento para 0,8 mg TCS/l.

Las curvas asociadas al catabolismo (q/q_0) y al anabolismo (μ/μ_0) obtenidas para el control y los reactores con TCS son representadas en la siguiente figura.

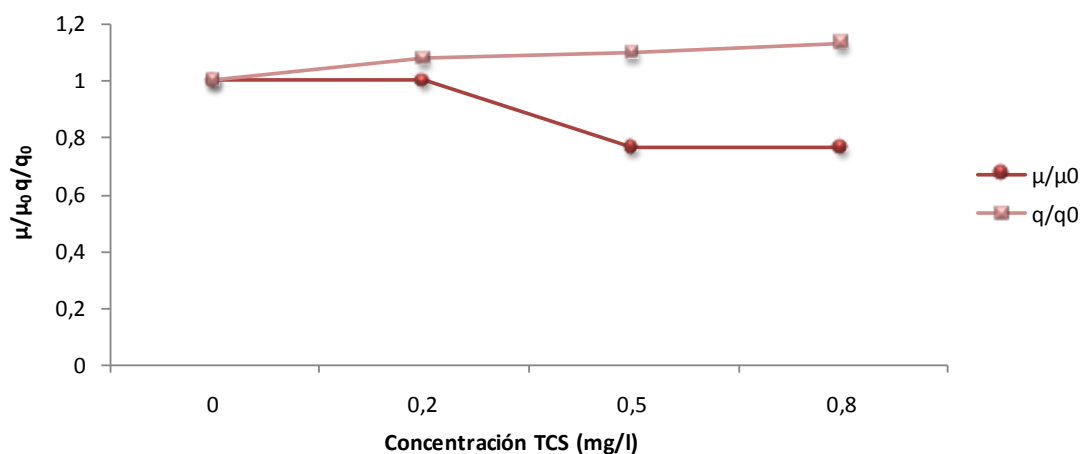


Figura IV.31. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para 0; 0,2; 0,5 y 0,8 mgTCS/l

La presencia del TCS en el medio produjo una clara disociación entre las rutas catabólicas y anabólicas, tal y como muestra la separación de las curvas asociadas al catabolismo y anabolismo celular. Este desacoplamiento se hizo patente incluso cuando la concentración de TCS fue de 0,2 mg/l. Cabe destacar que el TCS es el único de los agentes desacopladores capaz de producir el desacoplamiento metabólico a tan baja concentración. Una disociación de similar magnitud únicamente se consiguió para 10 mgZn/l en este estudio.

Al analizar detenidamente la evolución de las curvas, se observa que la adición del TCS produjo una activación de las rutas de degradación de materia orgánica ya que el cociente q/q_0 fue superior a 1 para las tres concentraciones de TCS estudiadas. Por el contrario, se observó un descenso de las rutas de construcción de nuevo material celular (μ/μ_0). La mayor distancia entre las curvas se obtuvo para 0,8 mgTCS/l, siendo esta la concentración para la que se midió la menor tasa de crecimiento del fango activo.

La Tabla IV.16 recoge los valores medios de los parámetros de seguimiento determinados en los reactores discontinuos.

Tabla IV.16. Características medias de los fangos bajo 0,2/0,5/0,8 mgTCS/l

Concentración (mg/l)	SOUR (mgO ₂ ·gSVS ⁻¹ ·d ⁻¹)	Eliminación de materia orgánica (%)	Células Totales (Nº cel./ml)	Células Activas (Nº cel./ml)	Cociente Células Activas/Totales
0	248,85 ± 36,85	52	6,58 x10 ⁹	7,26 x10 ⁸	0,11
0,2	263,66 ± 29,54	56	5,99 x10 ⁹	9,90 x10 ⁸	0,17
0,5	267,33 ± 25,73	57	6,08 x10 ⁹	1,00 x10 ⁹	0,16
0,8	267,56 ± 31,25	59	6,46 x10 ⁹	1,07 x10 ⁹	0,17

Respecto a la tasa de respiración se observa que todas las dosis de TCS produjeron una activación con respecto al valor obtenido en el reactor de control, siendo de un 7,5% para la mayor de las dosis de TCS añadidas. Igualmente, el rendimiento en eliminación de materia orgánica fue superior en los reactores con TCS que en el reactor de control. Para 0,8 mg TCS/l el porcentaje de eliminación a las 6 horas de ensayo fue del 59 % frente al 52% medido en el blanco, lo que se tradujo en un incremento del 13%. Por último, al analizar los resultados del recuento bacteriano se observa que la proporción de células activas se incrementó en los tres reactores a los que se añadió el TCS en torno al 50%, confirmando el efecto positivo sobre la actividad respiratoria de los microorganismos presentes en el fango activo y, por tanto, el catabolismo celular. Este comportamiento confirma la activación de las rutas de degradación de la materia orgánica observada a través de las curvas asociadas al metabolismo (Figura IV.31).

A raíz de los excelentes resultados obtenidos para las dosis de TCS estudiadas, se decidió realizar un segundo ensayo con dosis mayores del agente desacoplador a fin de comprobar si era posible reducir aún más el crecimiento de los microorganismos en el fango activo sin afectar al rendimiento del sistema. Las dosis de TCS añadidas en este segundo ensayo fueron 1, 2 y 5 mg/l. La siguiente tabla muestra las tasas de crecimiento obtenidas para cada una de las dosis de TCS añadidas y el reactor de control al finalizar el ensayo de 6 horas.

Como se observa en la Tabla IV.17, las tres dosis de TCS añadidas produjeron un descenso similar en la tasa de crecimiento del fango activo. La reducción determinada en los tres casos fue del 17% aproximadamente, por tanto inferior a la obtenida para 0,8 mg TCS/l (32%). En los tres reactores el incremento en la concentración de sólidos volátiles al finalizar el ensayo fue menor al obtenido en el reactor de control. En lo que respecta al consumo de materia orgánica, se observa que en los reactores con 2 y 5 mgTCS/l se produjo un ligero ascenso, mientras que en el reactor con 5 mgTCS/l el consumo fue un 7% menor al reactor de referencia.

Tabla IV.17. Tasas de crecimiento microbiano obtenidas en el segundo ensayo con TCS

Concentración TCS (mg/l)	Incremento biomasa SVS _f - SVS ₀ (mg/l)	Consumo materia orgánica DQO ₀ – DQO _f (mg/l)	Y _{x/s} (mgSVS/mgDQO)
0	130	265,3	0,49
1	110	267,1	0,41
2	110	267,1	0,41
5	100	247,0	0,40

Las curvas asociadas al metabolismo, representadas en la Figura IV.32, muestran la disociación del anabolismo y catabolismo producida por la adición del TCS en el segundo ensayo.

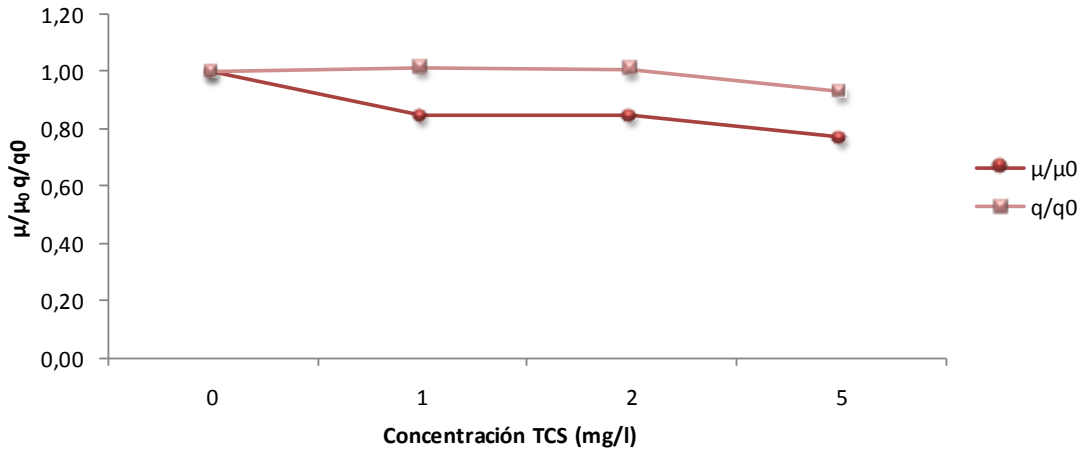


Figura IV.32. Curvas de tasa de crecimiento específico (μ/μ_0) y tasa de específica de eliminación de materia orgánica (q/q_0) obtenidas para 0; 1; 2 y 5 mgTCS/l

En este segundo ensayo la distancia entre ambas curvas no fue tan significativa como la obtenida en el ensayo con concentraciones de TCS $\leq 0,8$ mg/l (Figura IV.31). A pesar de ser un resultado positivo, se observa como a partir de 2 mg TCS/l las dos curvas iniciaron una tendencia descendente, pudiendo indicar un incipiente efecto tóxico del TCS sobre el fango activo.

Para finalizar, se presentan los valores de SOUR, el porcentaje de eliminación de materia orgánica y los resultados del recuento bacteriano mediante los fluorocromos DAPI y CTC obtenidos en el segundo ensayo con TCS.

Tabla IV.18. Características medias de los fangos bajo 1/2/5 mgTCS/l

Concentración (mg/l)	SOUR (mgO ₂ ·gSVS ⁻¹ ·d ⁻¹)	Eliminación de materia orgánica (%)	Células Totales (N°cel./ml)	Células Activas (N° cel./ml)	Cociente Células Activas/Totales
0	287,42 ± 35,59	58	3,34 x10 ¹⁰	4,76 x10 ⁹	0,14
1	316,67 ± 41,16	58	3,04 x10 ¹⁰	5,40 x10 ⁹	0,18
2	300,98 ± 34,15	58	3,30 x10 ¹⁰	4,49 x10 ⁹	0,14
5	288,77 ± 38,56	54	3,08 x10 ¹⁰	3,73 x10 ⁹	0,12

Para 1 y 2 mgTCS/l se observó un ascenso de la tasa específica de respiración con respecto al valor de referencia, del 10% y 5% respectivamente. En el reactor con 5 mgTCS/l apenas se registró variación en el valor del SOUR con respecto al control. El porcentaje de reducción de DQO obtenido para los reactores con 0, 1 y 2 mgTCS/l alcanzó el 58% al finalizar el ensayo, mientras que en el reactor con 5 mgTCS/l fue un poco menor (54%). El recuento de células activas y totales reflejó un incremento del 25% en el porcentaje de células activas aproximadamente para el reactor con 1 mgTCS/l mientras que para 5 mgTCS/l, el cociente entre células activas y totales descendió un 15% con respecto al valor de referencia. Por tanto, la adición del TCS en concentraciones ≤ 2 mg/l produjo un incremento en la actividad respiratoria de los fangos, siendo indicativo de la disociación de las rutas catabólicas y anabólicas. El menor rendimiento y porcentaje de células activas obtenido en el reactor con 5 mgTCS/l, hace pensar que dicha concentración del protonóforo puede estar ejerciendo un leve efecto nocivo sobre la actividad del fango.

Ante estos resultados se decidió no realizar nuevos ensayos con dosis superiores de TCS ya que, como se ha podido comprobar, un incremento en la dosis de dicho compuesto no produjo una mayor reducción en la tasa de crecimiento microbiano y sí supondría un mayor coste en la operación del sistema. Asimismo, mayores concentraciones comienzan a mermar el rendimiento del sistema.

Conclusiones

A tenor de los resultados obtenidos, es posible concluir que la dosificación tanto del Zn como el TCS a un sistema de fangos activos puede limitar el crecimiento de los microorganismos presentes en el medio sin reducir significativamente el rendimiento del proceso. No obstante, existe una clara diferencia entre ambos compuestos ya que las concentraciones de Zn que permiten reducir el crecimiento bacteriano son muy superiores a las del TCS, lo que implicaría un mayor consumo de reactivos en el caso de ser aplicado a escala real. Incluso la adición continua del Zn podría tener efectos negativos sobre el funcionamiento del sistema de fangos activos por efecto de la acumulación del metal en el medio, pudiendo alcanzar concentraciones tóxicas. Por el contrario, el TCS permite trabajar con muy bajas dosis para obtener buenos resultados tanto en reducción de biomasa como rendimiento del proceso, con el consecuente ahorro de reactivos. Por ello, en el siguiente experimento se probó la eficacia de este compuesto protonóforo sobre un sistema de lodos activos a escala de laboratorio, evaluando no sólo la reducción en la producción de fangos activos sino también la operación del sistema bajo la presencia de este compuesto. Los resultados de estos ensayos quedan recogidos en el capítulo IV.3.3.

Para el caso del cobre se ha comprobado que bajo ninguna de las concentraciones ensayadas se produce la disociación metabólica y la reducción de la tasa de crecimiento esperadas. Este hecho, junto con la clara inhibición de las rutas catabólicas, permite descartar el uso de este metal pesado como agente para la reducción de los fangos en exceso.

En lo que respecta al DNP, en este estudio se ha comprobado que su adición sobre los fangos activos no produce un efecto concreto rozando el límite entre la disociación de las rutas metabólicas y la inhibición de las mismas.

IV.3.3. Adición de TCS a un sistema de lodos activos a escala de laboratorio. Estudio del comportamiento del sistema y la producción de fangos.

En este apartado se presentan y discuten los resultados obtenidos en los ensayos realizados para probar la eficacia del TCS como agente minimizador de la generación de fangos residuales en un sistema de lodos activos operado en continuo bajo condiciones de laboratorio.

Para ello se empleó una planta de lodos activos cuyas características han sido presentadas en el capítulo III de Material y Métodos. Dos fueron las dosis de TCS estudiadas: 0,5 y 1 mg/l (considerando el volumen del reactor), en el entorno de los 0,8 mgTCS/l que, como se comentó en el apartado anterior, fue la dosis para la que se obtuvieron los resultados más satisfactorios en el ensayo en reactores en discontinuo. El TCS se añadió diariamente en polvo, debido a su baja solubilidad en agua.

Para cada dosis se realizaron dos ensayos para dos tiempos hidráulicos de residencia distintos: 11 y 7 horas. El caudal de alimentación fue, por tanto, de 0,3 l/h y 0,5 l/h respectivamente. Tal y como se indica en el capítulo III de Material y Métodos, la alimentación del sistema fue sintética, si bien, al inicio del ensayo y con el objeto de favorecer la adaptación de los microorganismos a las nuevas condiciones, se empleó agua residual decantada procedente de la EDAR de la que se tomaron los fangos para inocular las plantas. Durante el periodo de aclimatación, la alimentación sintética se fue introduciendo gradualmente hasta constituir el 100% de la fuente de sustrato del sistema. En esta fase aclimatación no se añadió el TCS. Esta fase finalizó una vez alcanzado el estado semi-estacionario en el sistema.

191

En primer lugar se presentan los resultados obtenidos para las dosis 0,5 y 1 mgTCS/l y tiempo hidráulico de residencia de 11 horas y, en un segundo apartado, los correspondientes a THR de 7 horas.

IV.3.3.1. Comportamiento del sistema bajo adición diaria de TCS y tiempo hidráulico de residencia 11 horas.

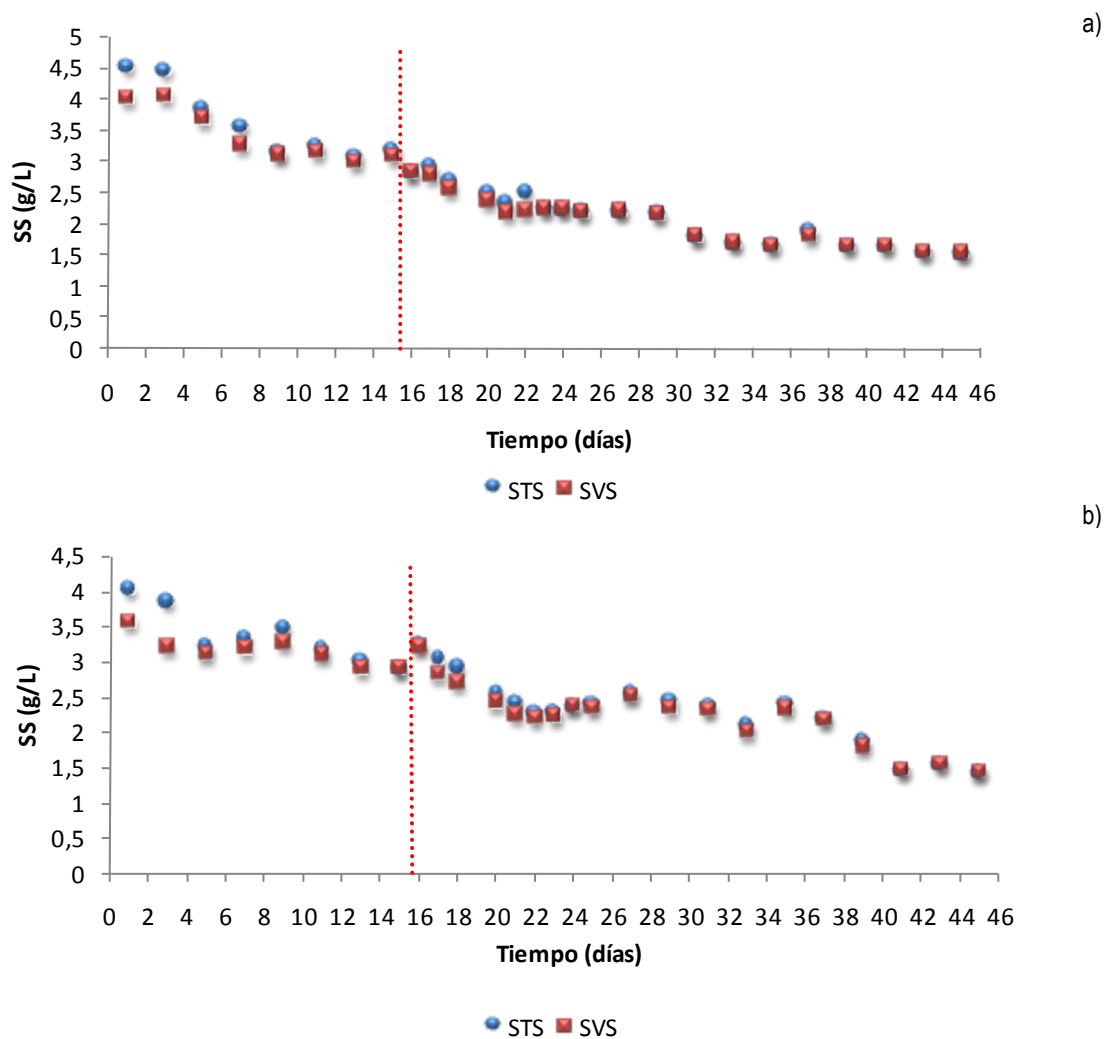
Durante este primer ensayo, el caudal de alimentación se mantuvo en 0,3 l/h. La recirculación de fangos desde el decantador secundario al tanque de aireación fue también de 0,3 l/h, de forma que la ratio Q_r/Q_a fue 1. Dos plantas de lodos activos de igual características fueron empleadas para estudiar el efecto de las dos concentraciones de TCS sobre el sistema. Ambas plantas fueron inoculadas con el mismo fango procedente de la EDAR el Trocadero.

La fase de aclimatación se extendió durante 15 días, siendo éste el tiempo necesario para estabilizar el sistema. A partir del día 16 de ensayo se introdujo el TCS.

A continuación, se muestran los resultados del seguimiento realizado sobre ambos sistemas.

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

De entre los parámetros físico-químicos determinados en este estudio, la concentración de sólidos totales y volátiles en suspensión es de suma importancia para evaluar el efecto del agente desacoplador sobre la producción de fangos en el sistema de lodos activos. La Figura IV.33 muestra la evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión para las dos concentraciones de TCS ensayadas.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.33. Evolución de los STS y SVS para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS

Como se observa en la figura anterior, la evolución de los sólidos totales y volátiles en los dos ensayos realizados es muy similar. La concentración de sólidos en suspensión tras inocular el sistema se encontraba en torno a 4 - 4,5 mgSTS/l. En ambos casos, durante los 7 primeros días de la fase de aclimatación, se produjo un descenso acentuado en la concentración de sólidos en

suspensión, que se puede considerar propia de la adaptación al nuevo medio. Asimismo, durante esta fase inicial la cantidad de fangos purgados del sistema fue elevada. En la segunda semana de ensayo, la concentración de sólidos se estabilizó en torno a 3 mg/l. En este momento se consideró que ambos sistemas habían alcanzado el estado semiestacionario y comenzó a dosificarse el TCS sobre el tanque de aireación de ambas plantas.

Tal y como se observa en la Figura IV.33 a), al dosificar 0,5 mgTCS/l se produjo un ligero repunte inicial de sólidos en suspensión, tanto totales como volátiles en el reactor de aireación. A partir del día 17 comenzó un descenso continuo y paulatino del contenido en materia en suspensión, estabilizándose al final del ensayo en 1,5 mgSTS/l. La tasa de pérdida de fangos promedio en el reactor de aireación durante la adición de 0,5 mgTCS/l fue de 0,1 mgSTS·l⁻¹·día⁻¹.

Para la planta de lodos activos a la que se adicionó 1 mgTCS/l se observó una evolución similar de forma que, al final del ensayo, la concentración de sólidos en suspensión se estabilizó igualmente en torno a 1,5 mgSTS/l. En este caso, la velocidad de pérdida de fangos en la cuba de aireación fue de 0,07 mgSTS·l⁻¹·día⁻¹.

Al comenzar a producirse la pérdida gradual de sólidos en el reactor aerobio, se pensó en aumentar la tasa de recirculación de fangos y reducir las purgas del sistema. Sin embargo, se optó por mantener constantes estos parámetros ya que a partir del día 28-30 el contenido en sólidos se estabilizó en ambos sistemas. Es muy probable que si se hubiera decidido mantener constante la concentración de sólidos en ambas cubas aumentado el caudal de recirculación de fangos, se tendría que haber parado la purga del sistema o, al menos, ralentizado tasa de eliminación de fangos.

Durante el ensayo, las pérdidas de sólidos a través de efluente fueron despreciables. De hecho, la concentración de sólidos en suspensión en el efluente fue inferior a 10 mgSS/l. Por tanto, el descenso del contenido en sólidos en suspensión observado en ambos sistemas podría asociarse a una reducción de la tasa de crecimiento de los microorganismos presentes en la unidad de lodos activos, incluso a la “estabilización” de los mismos, mediante procesos de endogénesis, al estar trabajando con altos tiempo de residencia (condiciones similares a la aireación prolongada). No obstante, este aspecto podrá ser comprobado al analizar y comparar estos resultados con los obtenidos para tiempos hidráulicos de residencia de 7 h, más cercano a la operación convencional del sistema de lodos activos.

El descenso en materia volátil en ambos sistemas provocó que la ratio TCS/biomasa aumentara gradualmente a lo largo del ensayo, ya que las dosis de TCS permanecieron invariables. En el sistema con 0,5 mgTCS/l, la cantidad de TCS por microorganismo aumentó de 0,20 mgTCS/gSVS hasta 0,35 mgTC/gSVS al finalizar el ensayo. En el caso del sistema dosificado con 1 mgTCS/l, la ratio se incrementó desde 0,35 mgTCS/gSVS a 0,65 mgTCS/gSVS. A lo largo de la exposición de los resultados de estos ensayos se comentarán las posibles implicaciones de esta evolución.

Otro aspecto destacable es que a partir del día 23 de ensayo los valores de STS y SVS se igualaron prácticamente, de manera que se puede considerar que toda la materia en suspensión es materia volatilizable y asimilable a biomasa. Al inicio del ensayo, el inóculo presentó un 76% de materia en suspensión volatilizable alcanzándose el 100% al final del ensayo. Esta evolución se debió, principalmente, a la alimentación sintética empleada como influente del sistema y que apenas aportó sólidos inorgánicos (todos los compuestos que conforman el medio sintético son fácilmente metabolizables).

En la Figura IV.34 se muestra la cantidad acumulada de fangos que se eliminaron de ambos sistemas, diferenciando entre la fase de aclimatación y la fase de adición del TCS.

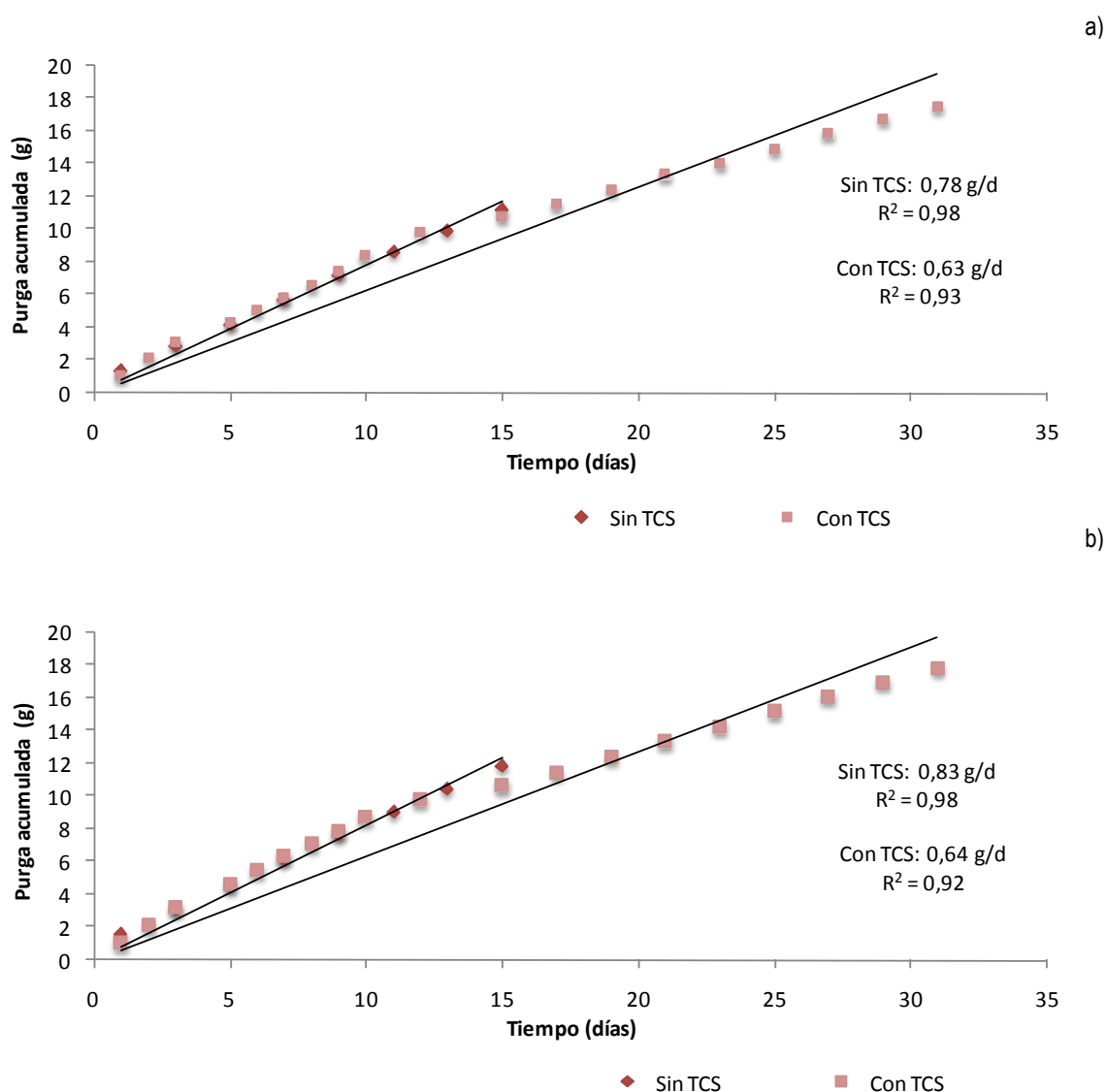


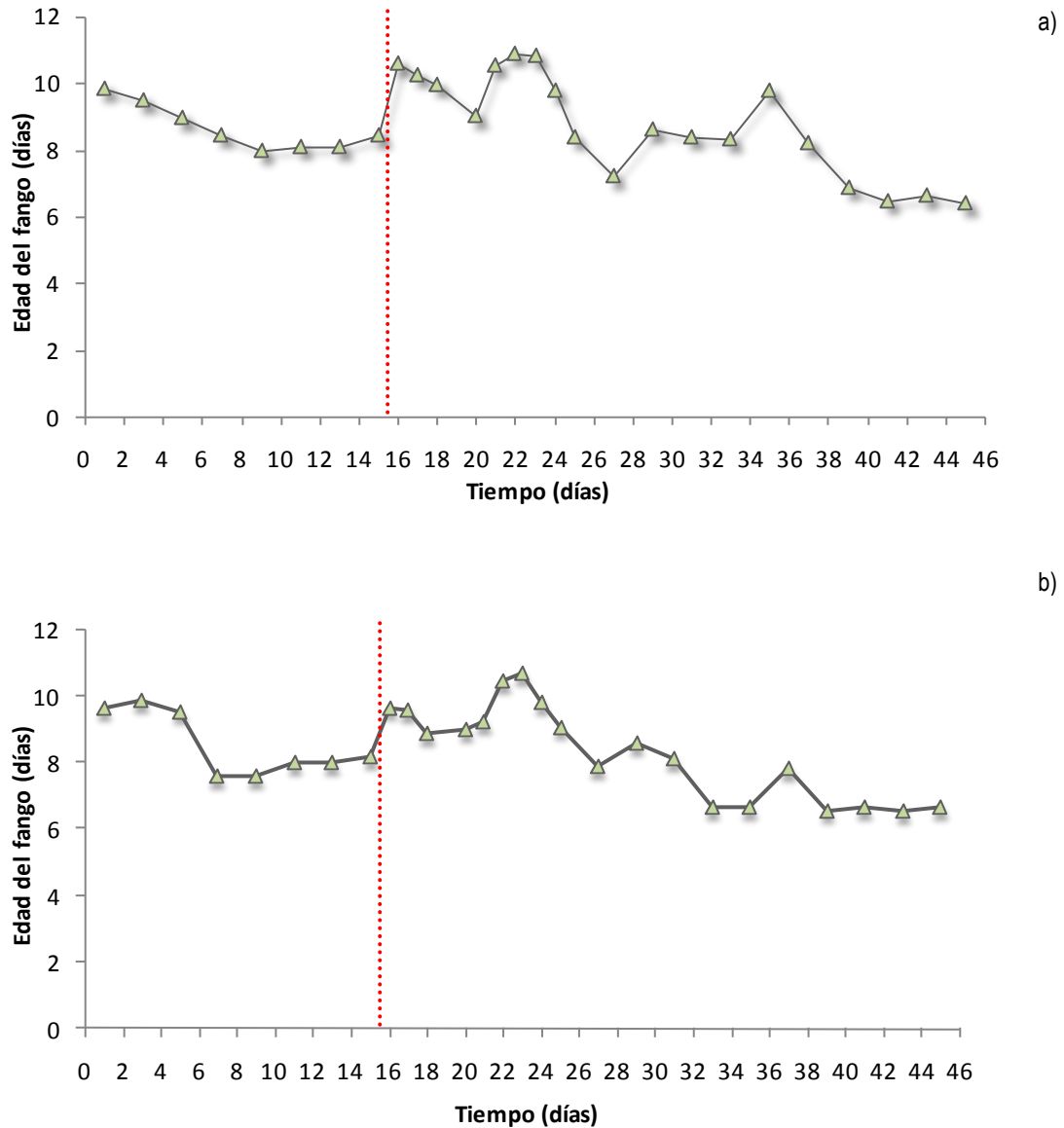
Figura IV.34. Fangos eliminados del sistema para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS

La pendiente de estas curvas representa la cantidad de fangos (en gramos) que son eliminados del sistema diariamente. Tal y como se observa en la Figura IV.34 a), durante la fase de aclimatación de los fangos a las condiciones del laboratorio, la tasa de eliminación de fangos se estableció en 0,78 g/día mientras que durante la adición de 0,5 mgTCS/l, la ratio descendió a 0,63 g/día. Por tanto, al dosificar el sistema con 0,5 mgTCS/l la cantidad de fango purgado del sistema se redujo en un 19%. En el segundo de los sistemas, la tasa de purga de lodos fue de 0,83 g/día durante la fase de aclimatación. Al adicionar el TCS en una concentración de 1 mg/l, la tasa de eliminación de fangos se estableció en 0,64 g/día (un 23% inferior).

Si en lugar de tomar de referencia el comportamiento del sistema durante la fase de aclimatación, se comparan estos resultados con los obtenidos en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia (capítulo IV.2.2, Figura IV.18), en los que la tasa de purga de fangos fue de 0,85 g/día para un THR de 11 horas, el descenso en la cantidad de fangos eliminados diariamente del sistema fue del 25% para ambas dosis. Esta reducción en la cantidad de fangos eliminados del sistema supone un importante ahorro en los costes asociados a su gestión, aunque este aspecto será tratado en un capítulo posterior de esta memoria.

Respecto a la edad del fango, la Figura IV.35 muestra la evolución de este parámetro a lo largo del periodo de estudio en ambos sistemas. En ella se observa que este parámetro registró un comportamiento bastante parecido para ambas concentraciones, a la vez que irregular. Durante la fase de aclimatación, la edad del fango describió un descenso inicial hasta estabilizarse entorno a 8 días. Este descenso se debió a que las purgas iniciales del sistema fueron cuantiosas no en volumen pero sí en concentración de sólidos, como consecuencia directa del proceso de adaptación de los fangos a las condiciones de laboratorio, hasta que los sólidos en suspensión en el tanque de aireación se estabilizaron en 3,0 g/l.

Al iniciar la dosificación del TCS, disminuyó la salida de fangos del sistema (se redujo la concentración de sólidos en la purga) y, consecuentemente, se produjo un aumento del tiempo de retención celular. Hasta el día 24 de ensayo, la edad del fango se mantuvo cercana a 10 días. Posteriormente, este parámetro volvió a describir una tendencia descendente propiciada, principalmente, por el descenso de sólidos en suspensión observado en el reactor de aireación, ya que el volumen de fangos purgados se mantuvo prácticamente constante a lo largo del periodo de dosificación del TCS. A partir del día 38 de ensayo la edad del fango se estabilizó en torno a 6,6 días en ambos sistemas, como se observa en la Figura IV.35.

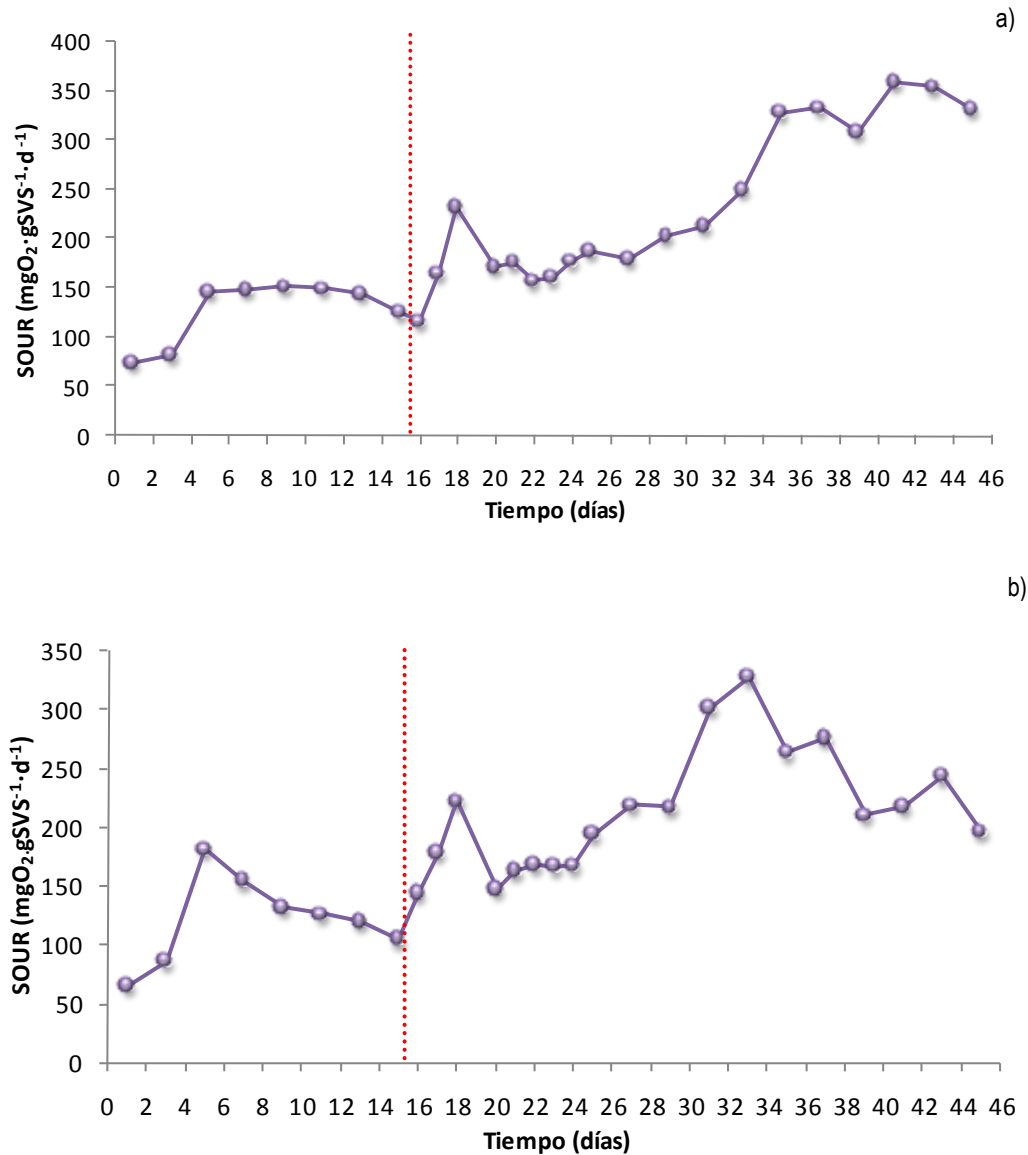


Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.35. Edad del fango en el reactor para $THR=11$ h y dosis a) $0,5$ mg/l y b) 1 mg/l de TCS

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($mgO_2 \cdot gSVS^{-1} \cdot día^{-1}$)

La tasa de respiración específica es un parámetro de actividad biológica empleado habitualmente en las EDAR por su rapidez en la determinación así como por la información aportada sobre el estado en el que se encuentra la microbiota de la unidad de fangos activos. La Figura IV.36 muestra los valores de SOUR ($mgO_2 \cdot gSVS^{-1} \cdot d^{-1}$) medidos en los tanques de aireación durante el desarrollo del ensayo.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.36. Evolución del SOUR para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS

Al inicio del ensayo la actividad respiratoria de los fangos en ambas plantas era baja (74,75 y 65,50 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹ para 0,5 mg/l y 1 mgTCS/l, respectivamente). Esta baja tasa de respiración, menor a la característica de los fangos de la EDAR “El Trocadero” (ver Tabla III.3), pudo estar motivada por el paso de las condiciones reales de operación a las establecidas en el laboratorio. A partir del quinto día, en el que la alimentación al sistema pasó a ser 100% sintética, la tasa de respiración aumentó, de forma más regular en el sistema a) que en el b). Tal y como se observa en la Figura IV.36, el SOUR se estabilizó en esta etapa de aclimatación entorno a 150 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹ en el sistema con 0,5 mgTCS/l y 120 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹, en el segundo tras un pico de actividad cercano a 200 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹ justo el quinto día de ensayo.

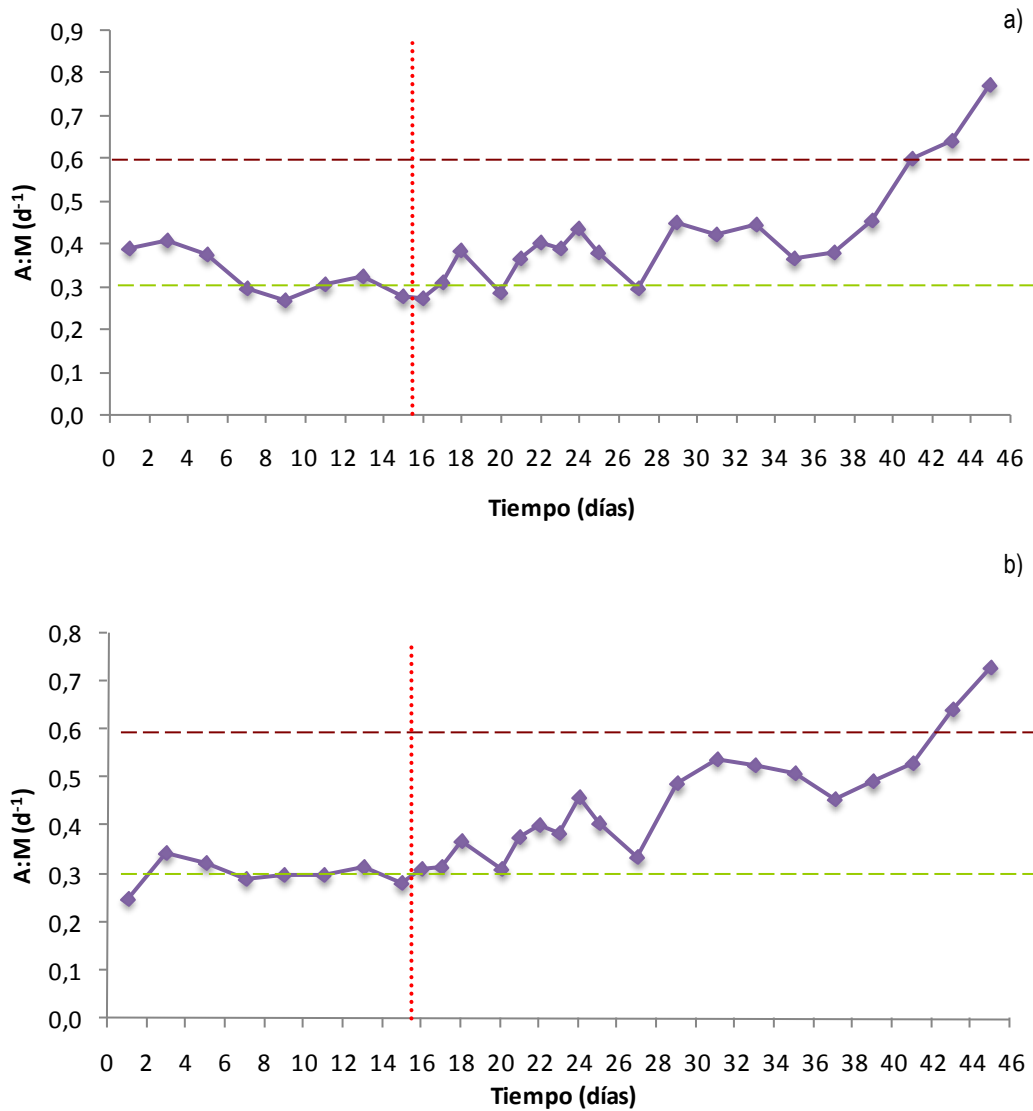
Al comenzar la dosificación del TCS en ambos sistemas, la actividad respiratoria de los fangos experimentó un pronunciado incremento. De hecho, en ambas curvas se observa un pico de actividad en torno al día 18-19 de ensayo. Posteriormente, el SOUR descendió y se estabilizó siendo el valor promedio de $165 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, en ambas plantas. A partir del día 24 de ensayo, la actividad respiratoria comenzó nuevamente a aumentar de forma gradual en ambos sistemas.

En la planta a la que se adicionó $0,5 \text{ mgTCS/l}$, el SOUR se estabilizó en torno a $330 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en los últimos días del ensayo, de forma que la actividad respiratoria del fango activo se cuadruplicó con respecto al valor medido al inicio del mismo. Por el contrario, para la dosis 1 mg TCS/l la tendencia ascendente del SOUR se invirtió el día 33 de ensayo, día en el que el SOUR comenzó a descender, estabilizándose en torno a $200 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ al final del ensayo. Este descenso pudo deberse a la alta ratio TCS/microorganismos alcanzada al final de esta etapa de estudio, como se ha comentado en apartados anteriores, que pudo inhibir la actividad respiratoria de los fangos.

Así, si comparamos la tendencia observada en la actividad respiratoria con la evolución de la concentración de biomasa en ambos sistemas (ver Figura IV.33), se observa que ambas curvas presentaron un comportamiento inverso, de manera que a medida que disminuyó la cantidad de fangos, la actividad respiratoria de los microorganismos presentes en el mismo se incrementó.

Dado que la carga orgánica aplicada al sistema se mantuvo constante una vez sustituida la alimentación real por la sintética, al variar el contenido en biomasa en el reactor, la relación A:M sí sufrió variaciones. La Figura IV.37 muestra la evolución de este parámetro en ambos sistemas, en la que se observa cómo, prácticamente, durante todo el ensayo la relación A:M se mantuvo entre 0,3 y $0,6 \text{ d}^{-1}$, si bien superó esta barrera al final del mismo.

Al aumentar la cantidad de materia orgánica aportada al sistema, la demanda de oxígeno por parte de los microorganismos presentes en el fango aumentó, lo cual se tradujo en un mayor SOUR. La evolución de la relación A:M explica, por tanto, el incremento en la actividad respiratoria observada en ambos sistemas en los últimos días del ensayo. De hecho, las figuras IV.36 a) y IV.37 a) presentan una evolución paralela.



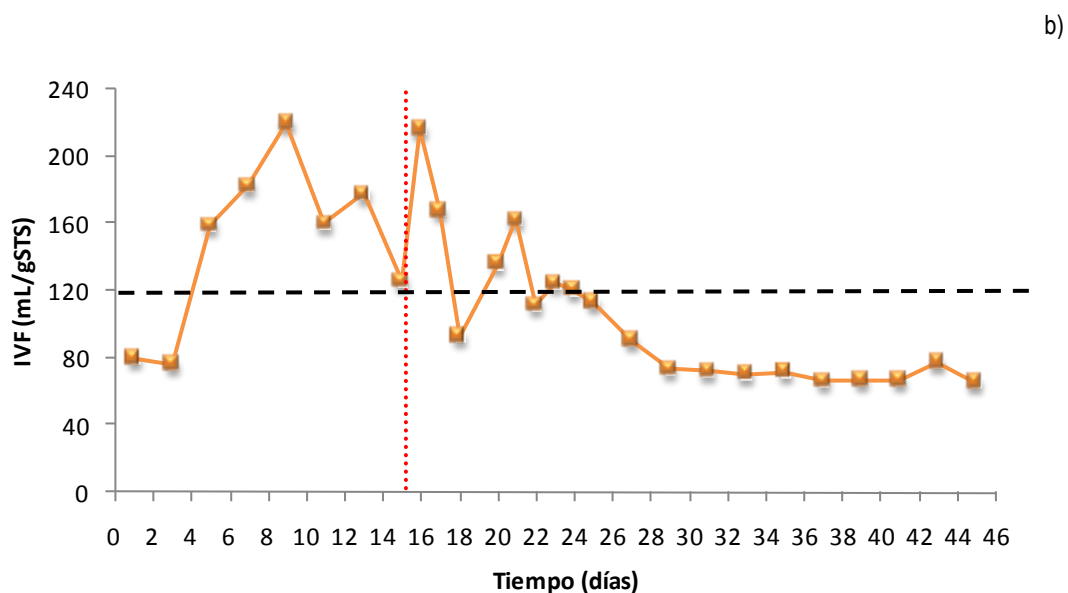
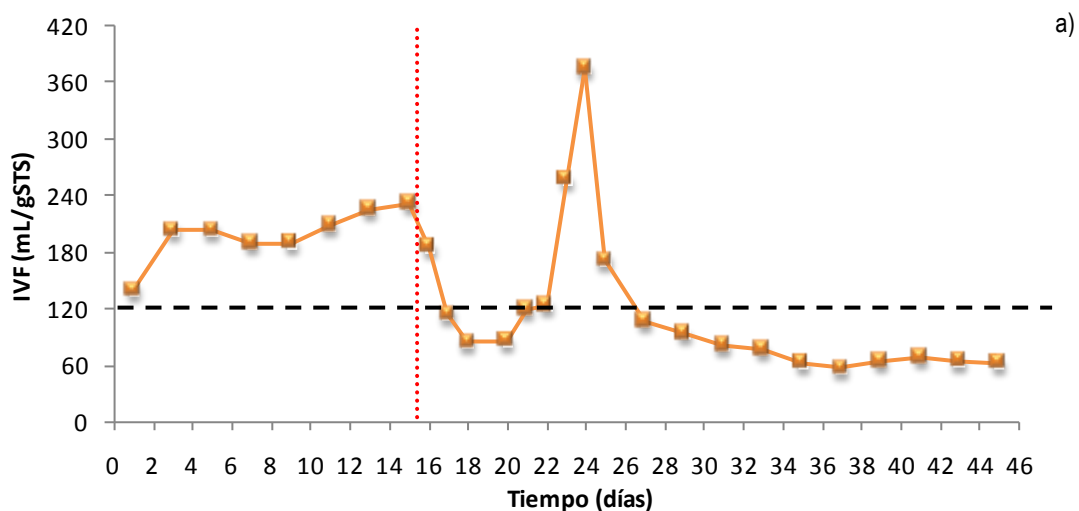
Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS. Las líneas horizontales representan los valores de A:M 0,3 (verde) y 0,6 (marrón).

Figura IV.37. Evolución de la relación A:M para THR=11 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

La Figura IV.38 muestra la evolución del índice volumétrico de fangos en los sistemas con 0,5 y 1 mgTCS/l. Durante la fase de aclimatación del fango a las condiciones de operación del laboratorio, el índice volumétrico de fangos se mantuvo prácticamente por encima de 120 ml/gSTS. Estos valores indican que el fango presentaba una baja capacidad de sedimentación. Durante esta fase de aclimatación, la relación A:M se mantuvo cercana a 0,3 d⁻¹ que, según lo descrito en el capítulo de Antecedentes, corresponde a la fase de respiración endógena que se

caracteriza por flóculos dispersos con una baja capacidad de sedimentación. De hecho, la observación al microscopio óptico descartó la presencia de microorganismos filamentosos. A pesar de los bajos índices de sedimentación medidos en el tanque de aireación, en el decantador secundario se observó una correcta separación del efluente clarificado y el manto de fangos.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.38. Evolución del IVF para THR= 11h y dosis a) 0,5 mg/L y b) 1 mg/L de TCS

Como se aprecia en la Figura IV.38 a), al comenzar la adición del TCS (0,5 mg/l) se observó un descenso del IVF por debajo de 120 ml/gSTS. Sin embargo, en el día 24 de ensayo se detectó un importante aumento del IVF, superándose los 360 ml/gSTS. Este incremento estuvo motivado por un *bloom* de filamentosas en el tanque de aireación desarrollándose el fenómeno

de *bulking*. No obstante, la duración de este fenómeno fue mínima ya que a partir de ese mismo día, el IVF comenzó a descender por debajo de 120 ml/gSTS, estabilizándose en torno a 60 ml/gSTS al final del ensayo. Durante este episodio de *bulking* el manto de fangos en el decantador secundario aumentó con respecto a niveles normales. A pesar de ello, se pudo controlar gracias al “elevado” caudal de recirculación impuesto ($Q_r = 0,3 \text{ l/h}$) y a que la carga hidráulica del decantador se mantuvo constante durante todo el ensayo, lo que impidió el escape de los lodos a través del efluente. Un aumento del caudal de alimentación, podría haber provocado un levantamiento extremo del manto de fangos con la consecuente salida de los mismos a través del efluente, tal y como se comprobó en el ensayo de tiempos de residencia para un THR de 5 horas (capítulo IV.2).

La evolución del IVF en la planta a la que se adicionó 1 mgTCS/l, fue más irregular durante los primeros días en los que el compuesto orgánico fue dosificado, tal y como se observa en la Figura IV.38 b). Tras una semana de altibajos, el IVF comenzó a estabilizarse por debajo de los 120 ml/gSTS hasta alcanzar un valor constante de 65 ml/gSTS. Al contrario de lo observado en la otra planta de lodos activos, en este sistema los picos de IVF no superaron los 240 ml/gSTS. Dichos picos de IVF también tuvieron su origen en el desarrollo no controlado de organismos filamentosos aunque el fenómeno de *bulking* fue de menor entidad.

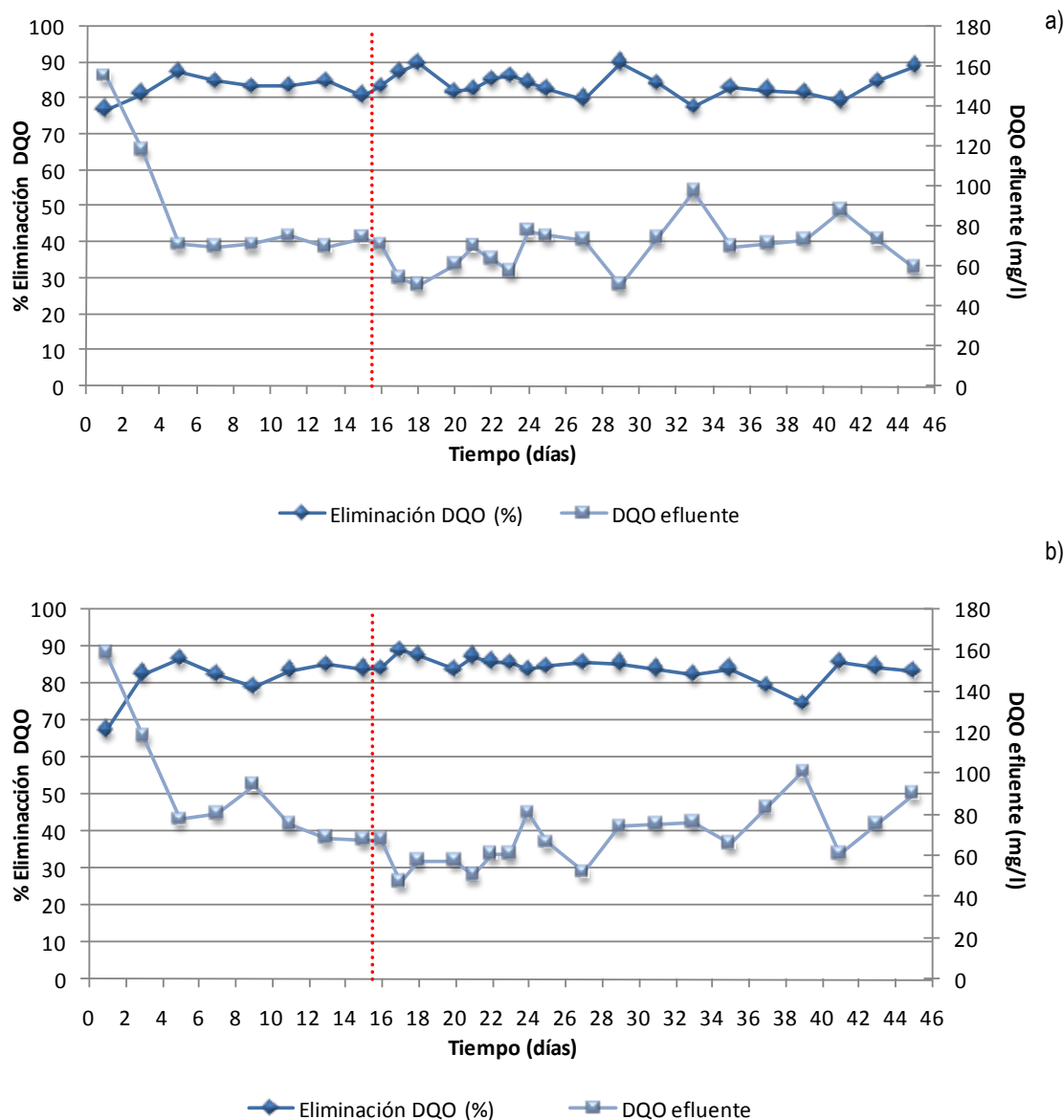
En ambos sistemas, el fango mostró una buena capacidad de sedimentación al finalizar el ensayo, a pesar de que la relación A:M superó el límite de $0,6 \text{ d}^{-1}$ (ver Figura IV.37).

El comportamiento observado permite concluir que la adición del TCS no alteró la sedimentabilidad de los fangos presentes en el tanque de aireación, ya que una vez estabilizado el sistema, el IVF permaneció por debajo del valor crítico antes comentado. No obstante, no es posible asegurar que la adición del mismo mejorara esta característica de los lodos.

Rendimiento de la depuración

El rendimiento de la depuración, o porcentaje de eliminación de materia orgánica, es un parámetro esencial para evaluar de forma global el funcionamiento del sistema de depuración, y en este caso, el efecto del TCS sobre el mismo. En la Figura IV.39 se muestra la evolución del rendimiento del sistema durante las fases de aclimatación y dosificación del TCS así como los valores de la DQO de salida.

La DQO media de la alimentación sintética fue 450 mg/l aproximadamente y la carga volúmica aplicada a ambos sistemas se mantuvo constante a lo largo del ensayo ($0,74 \text{ kgDBO}_5 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$), salvo los primeros días en los que se empleó conjuntamente agua residual real y sintética.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.39. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente para THR= 11h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS

Como puede apreciarse en la Figura IV.39, la DQO del efluente final de ambos sistemas se situó por debajo del límite establecido por la Directiva 91/271/CEE y el Real Decreto 11/1995 que lo transpone al ordenamiento interno español (125 mg/l), a excepción de los primeros días correspondientes a la fase de aclimatación de los fangos, en los que la DQO del efluente fue de 155 mg/l en el primer sistema y 158 mg/l en el segundo. A partir del día 4 de ensayo, la DQO del efluente final de las dos plantas de lodos activos se situó en 70-80 mgDQO/l.

Al comenzar la adición del TCS no se observó variación significativa en la calidad del efluente, aunque el comportamiento de este parámetro fue irregular a lo largo del estudio. De hecho, se

observan algunos picos en los que la DQO alcanzó los 100 mg/l. A contrario de lo observado en ensayos anteriores, estos empeoramientos puntuales de la calidad del efluente no se debieron a la fuga de sólidos a través del efluente.

El valor promedio de la DQO del efluente fue de $68,92 \pm 11,97$ mg/l y $68,68 \pm 14,06$ mg/l para 0,5 y 1 mgTCS/l respectivamente, siendo el rendimiento medio de la depuración del 84% aproximadamente. A tenor de estos resultados, el efluente de ambos sistemas cumplió con la legislación vigente en materia de vertidos de aguas residuales urbanas tratadas tanto en valores absolutos como en porcentajes de eliminación de materia orgánica.

Cabe destacar que, a pesar de que la concentración de sólidos en suspensión disminuyó en las cubas de aireación de ambos sistemas a medida que se prolongó el ensayo (Figura IV.33), el rendimiento del sistema permaneció prácticamente invariable. Tal y como refleja la Figura IV.36, la actividad respiratoria de los fangos aumentó en presencia del TCS. Por tanto, al dosificar el agente desacoplador se consiguió mantener en el reactor una pequeña población microbiana pero altamente eficiente en la eliminación de materia orgánica. Este comportamiento puede ser considerado como un reflejo de la activación de las rutas catabólicas como consecuencia de la interrupción de la fosforilación oxidativa a nivel metabólico producida por el TCS.

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

203

El inóculo inicial empleado en este ensayo se caracterizó por la presencia de organismos ciliados reptantes de tamaño medio (*Euplotes* sp. y *Aspidisca* sp.) y algunos ciliados sésiles de tallo corto (Peritricos tipo *Vorticella*) tanto individuales como en colonias. Existían, igualmente, bacterias filamentosas asociadas a los flóculos de tamaño medio, creando la estructura de los mismos sin llegar a formar puentes interfloculares. La presencia de ciliados sésiles indica que el fango presentaba un moderado nivel de maduración aunque no se observaron metazoos.

Durante el periodo de aclimatación (días 1 a 15 de ensayo), desaparecieron todos los organismos sésiles filtradores, constituyéndose como población dominante zooflagelados de pequeño tamaño, característicos de un medio poco maduro y de la puesta en marcha del reactor. Esta sucesión es lógica, ya que se produjo un cambio tanto en la alimentación del sistema como en las condiciones de operación de los fangos. Al finalizar la fase de aclimatación, y una vez estabilizados los valores de SS en el tanque de aireación y DQO del efluente, se establecieron poblaciones de *Aspidicas* sp. y *Vorticellas* sp. que denotaron un mayor grado de madurez en ambos sistemas, aunque los pequeños zooflagelados continuaron siendo abundantes.

La dosificación del TCS sobre las dos plantas de lodos activos no produjo un cambio importante en la comunidad microbiana. De hecho, comenzaron a aparecer otros organismos ciliados reptantes como *Euplotes* sp. y algunos carnívoros como *Litonotus* sp., indicando un

mayor grado de madurez del fango. En cuanto a las filamentosas, se observó que en la planta con 1 mgTCS/l, comenzaron a generar puentes interfloculares que limitaban la agregación de flóculos de menor tamaño. Tal y como se observa en la Figura IV.38 b), durante el inicio de la adición del TCS la decantabilidad del fango fue mala. En la planta a la que se adicionó 0,5 mgTCS/l se apreció un crecimiento masivo de filamentosas durante el día 24 adquiriendo el fango un aspecto esponjoso siendo muy baja su capacidad de sedimentación. Durante este episodio de *bulking* filamentoso, la diversidad ecológica en el fango activo desapareció.

Posteriormente, en ambos sistemas, la población de filamentosas se redujo, con el consecuente aumento del tamaño de los flóculos. Comenzaron, asimismo, a reaparecer las poblaciones de *Aspidiscas* y *Litonotus* manteniéndose igualmente una importante población de pequeños zooflagelados. Esta composición poblacional denotó una cierta inestabilidad del sistema, tras el desarrollo masivo de bacterias filamentosas.

A partir del día 34 de ensayo, se observó la presencia de metazoos, principalmente rotíferos y algunos nematodos. También se encontraron algunas colonias de peritricos (sésiles filtradores) y amebas testáceas denotando un alto grado de madurez de los fangos y una buena calidad del efluente final del sistema. La presencia de organismos superiores puede igualmente relacionarse con el aumento en la tasa de respiración observada durante los últimos 10 días de ensayo (ver Figura IV.36).

A tenor de los resultados del seguimiento de poblaciones realizado sobre el fango activo, es posible concluir que el TCS no interfirió la sucesión normal de microorganismos ya que los episodios de *bulking* filamentoso no pueden achacarse a este compuesto químico pues también tuvieron lugar durante la puesta en marcha del sistema.

A nivel de bacterias, es importante conocer el efecto del TCS tanto sobre las células totales como las células activas. La Tabla IV.19 muestra los resultados del recuento bacteriano realizado sobre muestras puntuales durante la fase de dosificación del TCS en ambos sistemas (30 días). En líneas generales, en dicha tabla se observa que, para ambos sistemas, el porcentaje de células activas con respecto al número total de células disminuyó a lo largo del ensayo. En el caso de la planta con 0,5 mgTCS/l esta evolución a nivel microscópico no coincide con la descrita por la tasa de respiración que, como ha sido comentado anteriormente (Figura IV.36 a)), se incrementó en los últimos días de ensayo. En el sistema al que se adicionó 1 mgTCS/l sí se observó un descenso en el SOUR (Figura IV.36 b)), por lo que es probable que ambos descensos estén causados por la elevada ratio TCS/microorganismos alcanzada en el reactor.

Tabla IV.19. Recuento de células totales y activas en sistemas con 0,5 y 1 mgTCS/l bajo THR= 11h.

Día de ensayo	Células totales-DAPI (x 10 ⁹ cel./ml)		Células activas-CTC (x 10 ⁹ cel./ml)		% Cél. Activas	
	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l
17	36,6	39,1	5,18	5,71	14	15
21	41,6	45,4	4,95	5,65	12	12
24	37,2	44,2	7,01	6,52	19	15
31	36,0	40,7	4,16	3,95	12	10
37	50,3	53,4	5,81	5,12	12	10
45	49,2	32,9	4,56	2,07	9	6

El porcentaje de activas medio fue del 13% y 11% respectivamente para los sistemas con 0,5 mgTCS/l y 1 mgTCS/l, un dato muy pequeño en comparación con los determinados por Coello (1998). Estos porcentajes se encuentran en el orden de magnitud de los obtenidos por Chen G-H. *et al.* (2002) quienes, sin embargo, comprobaron que el TCS estimulaba el desarrollo de los microorganismos activos en el licor mixto. Si se toma como referencia el valor obtenido en el ensayo de tiempos de residencia recogidos en la Tabla IV.7, donde el porcentaje de activas para THR= 11 horas es del 18% aproximadamente, se observa un cierto descenso motivado por la presencia del TCS en el medio. No obstante, a tenor de los buenos rendimientos de eliminación de materia orgánica obtenidos durante la adición del TCS, esta posible inhibición o reducción del número de células activas (que respiran) no es preocupante.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

Una vez comprobado que el TCS puede reducir la producción de fangos en exceso sin alterar el rendimiento del sistema, es necesario fundamentar dicho descenso. Si el TCS actuó realmente como agente desacoplador del metabolismo bacteriano, debió limitar las rutas de biosíntesis de nuevo material celular.

Para evaluar el efecto del TCS sobre el crecimiento de los microorganismos presentes en el fango activo, se realizaron dos ensayos en discontinuo para la determinación de la tasa de crecimiento observada, uno al finalizar la etapa de aclimatación del fango a las condiciones de laboratorio y, otro al finalizar el ensayo (día 45).

En la Tabla IV.20 se muestra la evolución de los sólidos volátiles en suspensión y la DQO en el licor mezcla (sobre muestra filtrada) a tiempo 0 horas, 2 horas, 5 horas y 24 horas, al finalizar la fase de aclimatación. También aparece recogido el valor de la Y_{obs} . A diferencia de los ensayos previos realizados sobre reactores discontinuos para probar el potencial de cuatro agentes desacopladores, la duración de los test para la determinación de la tasa de crecimiento fue de 24 horas. Este ensayo fue realizado sobre un volumen de 250 ml del fango procedente de las cubas de aireación de ambos sistemas. La carga orgánica aplicada al reactor discontinuo fue la misma que la aplicada sobre el sistema de lodos activos en continuo.

Tabla IV.20. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos previa a la dosificación de TCS (THR=11h).

Tiempo (h)	SVS(mg/l)		DQO (mgO ₂ /l)		Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)	
	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2
0	2.640	2.830	851,53	875,67	—	—
2	2.780	2.960	554,17	567,98	—	—
5	2.840	3.140	486,59	475,23	—	—
24	3.070	3.230	121,65	138,25	0,59	0,54

Tal y como se observa en la tabla anterior, la tasa de crecimiento microbiano medida como incremento de sólidos volátiles por DQO consumida en un periodo de 24 horas fue similar en ambos sistemas. Tanto el incremento de sólidos volátiles en los reactores como el consumo de materia orgánica fueron del mismo orden de magnitud ya que, durante la fase de aclimatación, las condiciones de operación en las dos plantas piloto fueron las mismas. Por tanto, previa a la adición del TCS el Y_{obs} medio fue de $0,57 \pm 0,03$ mgSVS/mgDQO. Este valor de la tasa de crecimiento se encuentra en el rango de valores típicos de un sistema convencional de fangos activos (0,55-0,65 mgSVS/mg DQO), siendo superior al obtenido en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia para las mismas condiciones de operación (Tabla IV.8).

Al finalizar la dosificación del TCS sobre el sistema, se volvió a repetir esta determinación, empleando en este caso un mayor volumen de fangos (1,5 l) pero aplicando la misma carga orgánica. Los resultados obtenidos para los sistemas con 0,5 mgTCS/l y 1 mgTCS/l se recogen en la Tabla IV.21.

Tabla IV.21. Resultados ensayo de degradación cinética y tasa de crecimiento observada para fangos dosificados con TCS (THR=11h).

Tiempo (h)	SVS(mg/l)		DQO (mgO ₂ /l)		Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)	
	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l
0	1.440	1.530	892,08	892,08	—	—
2	1.600	1.770	794,09	594,72	—	—
5	1.670	1.790	554,17	513,62	—	—
24	1.730	1.840	148,68	97,99	0,39	0,39

Las tasas de crecimiento observadas tanto para el fango que fue dosificado diariamente con 0,5 mgTCS/l como para el de 1 mgTCS/l fueron idénticas y de valor igual a 0,39 mg SVS/mgDQO. En otros trabajos, como el realizado por Chen G-H. *et al.* (2002), se observó que la tasa de crecimiento era menor para 1 mgTCS/l que para 0,5 mgTCS/l. Las tasas de crecimiento obtenidas en ambos sistemas son del mismo orden de magnitud que las obtenidas en el ensayo de reactores en discontinuo (Tabla IV.15).

En este estudio, el incremento en biomasa a las 24 horas fue de 435 mgSVS en el reactor con 0,5 mgTCS/l (considerando un volumen de fangos de 1,5 l) y 465 mgSVS en el correspondiente a 1 mgTCS/l. Sin embargo, el consumo de materia orgánica fue mayor para la mayor dosis de TCS. De hecho en este último reactor, la velocidad de consumo de materia orgánica fue mayor que en el primero durante las primeras horas del ensayo.

Si comparamos el valor de la tasa de crecimiento previo a la adición del TCS y al final del proceso de dosificación, la reducción en el crecimiento alcanzó el 31,5% aproximadamente en ambos sistemas.

Si en lugar de tomar como referencia el valor de la tasa de crecimiento obtenido en la fase de aclimatación se toma el obtenido en el ensayo de la influencia del tiempo de residencia en la producción de fangos comentado en el apartado IV.2 ($Y_{obs} = 0,43$ mgSVS/mgDQO para THR=11 d), la reducción producida por la adición del TCS alcanzaría un 9%.

En cualquier caso, los resultados obtenidos en este test permiten afirmar que el TCS limitó el crecimiento de los microorganismos presentes en el fango activo. Consecuentemente, la concentración de microorganismos descendió en ambos sistemas y la cantidad de fangos purgados se vio reducida alrededor del 20%. Y todo ello sin afectar el rendimiento en eliminación de materia orgánica ni perturbar la capacidad de sedimentación de los fangos.

IV.3.3.2 Comportamiento del sistema bajo adición diaria de TCS y tiempo hidráulico de residencia 7 horas.

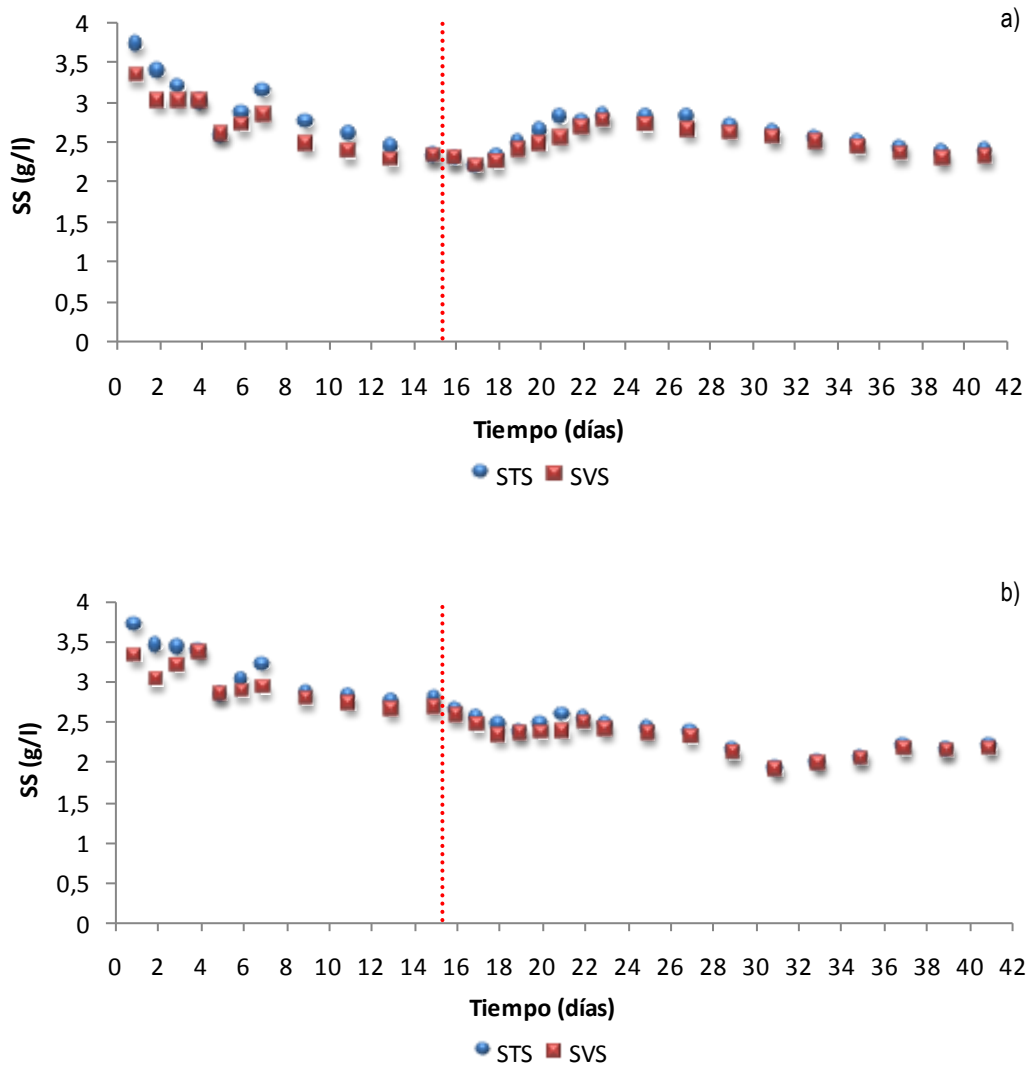
El objeto de este segundo ensayo fue corroborar los resultados obtenidos para tiempo hidráulico de residencia de 11 horas, sometiendo a los fangos a unas condiciones de operación más cercanas a las convencionales como es un $THR=7$ horas. Las dosis de TCS estudiadas fueron las mismas que en el ensayo anterior (0,5 y 1 mgTCS/l). También, y al igual que en el apartado anterior, se presentan y discuten los resultados obtenidos para ambas dosis del agente desacoplador bajo las nuevas condiciones de ensayo ($Q_{alimentación}= 0,5$ l/h). Nuevamente, la ratio Q_r/Q_a se mantuvo por encima de la unidad ($Q_r= 0,5-0,6$ l/h).

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

La Figura IV.40 muestra la evolución de los sólidos totales y volátiles en las dos plantas de lodos activos desde el inicio del ensayo hasta que finaliza la etapa de dosificación del TCS. Al igual que en el ensayo anterior, la fase de aclimatación de los fangos se extendió durante 15 días, en los cuales no se añadió el TCS y en la que se consiguió estabilizar los sólidos en suspensión en el reactor en 2,5 g/l aproximadamente.

Para este ensayo, se partió de un inóculo con un contenido en sólidos totales de 3,70 g/l aproximadamente y un porcentaje de volátiles del 89%. A media que transcurrió la fase de aclimatación, la concentración de sólidos en suspensión descendió paulatinamente hasta estabilizarse en torno al valor antes mencionado y el porcentaje de materia volátil se aproximó al 100%.

Tal y como se observa en la Figura IV.40, al añadir el TCS sobre el tanque de aireación, el primer efecto observado fue un descenso en la concentración de sólidos en suspensión, tanto en el sistema al que se añadió 0,5 mgTCS/l como en el correspondiente a 1 mgTCS/l. No obstante, dicho descenso no puede entenderse como una respuesta inmediata al suministro del TCS, primeramente por la rapidez de la respuesta, y en segundo lugar, porque a partir del día 18 de ensayo los sólidos en suspensión aumentaron nuevamente en la primera de las plantas y se frenó la tendencia descendente en la segunda. Este incremento en el contenido en sólidos se observó igualmente en el ensayo realizado bajo THR de 11 horas (ver Figura IV.33), aunque con cierto desfase en el tiempo y únicamente en el sistema con 0,5 mgTCS/l.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.40. Evolución de los STS y SVS para $THR=7h$ y dosis a) $0,5 \text{ mg/L}$ y b) 1 mg/L de TCS

A diferencia de lo ocurrido en el ensayo bajo THR de 11 horas, en este experimento no se detectó un descenso gradual en la concentración de lodos en el reactor de aireación conforme transcurrió el ensayo. Incluso en el sistema con $0,5 \text{ mgTCS/l}$, la concentración de STS alcanzó los niveles de la fase de aclimatación. Al finalizar el ensayo, la concentración de sólidos en suspensión se estabilizó entorno a $2,4 \text{ mg/l}$ en el primer sistema y $2,1 \text{ mg/l}$ en el segundo. En valores absolutos, la reducción en la concentración de sólidos en suspensión con respecto a la fase de aclimatación (una vez estabilizado el sistema) fue tan sólo $0,1 \text{ mgSTS/l}$ en el reactor con $0,5 \text{ mgTCS/l}$ y de $0,6 \text{ mgSTS/l}$ en el sistema con 1 mgTCS/l . Esta evolución puede tener su explicación en la carga orgánica aplicada sobre el sistema. Bajo THR de 11 horas la carga volumica era de $0,74 \text{ kgDBO}_5 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ mientras que para THR de 7 horas este parámetro se

incrementó hasta $1,23 \text{ kgDBO}_5 \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, favoreciendo el mantenimiento de una mayor concentración de biomasa en el reactor aerobio.

La constancia en la concentración de fangos permitió que la ratio TCS/microorganismos permaneciera prácticamente invariable a lo largo del ensayo. Así, en el reactor con $0,5 \text{ mgTCS/l}$ la disponibilidad del agente desacoplador fue de $0,20 \pm 0,01 \text{ mgTCS/mgSVS}$, mientras que para el reactor con 1 mgTCS/l esta ratio se mantuvo en $0,45 \pm 0,04 \text{ mgTCS/mgSVS}$. En ningún caso se alcanzaron los valores detectados en el ensayo para THR de 11 horas ($0,65 \text{ mgTCS/mgSVS}$).

En la Figura IV.41 se muestra la cantidad acumulada de fangos purgados de los dos sistemas de lodos activos.

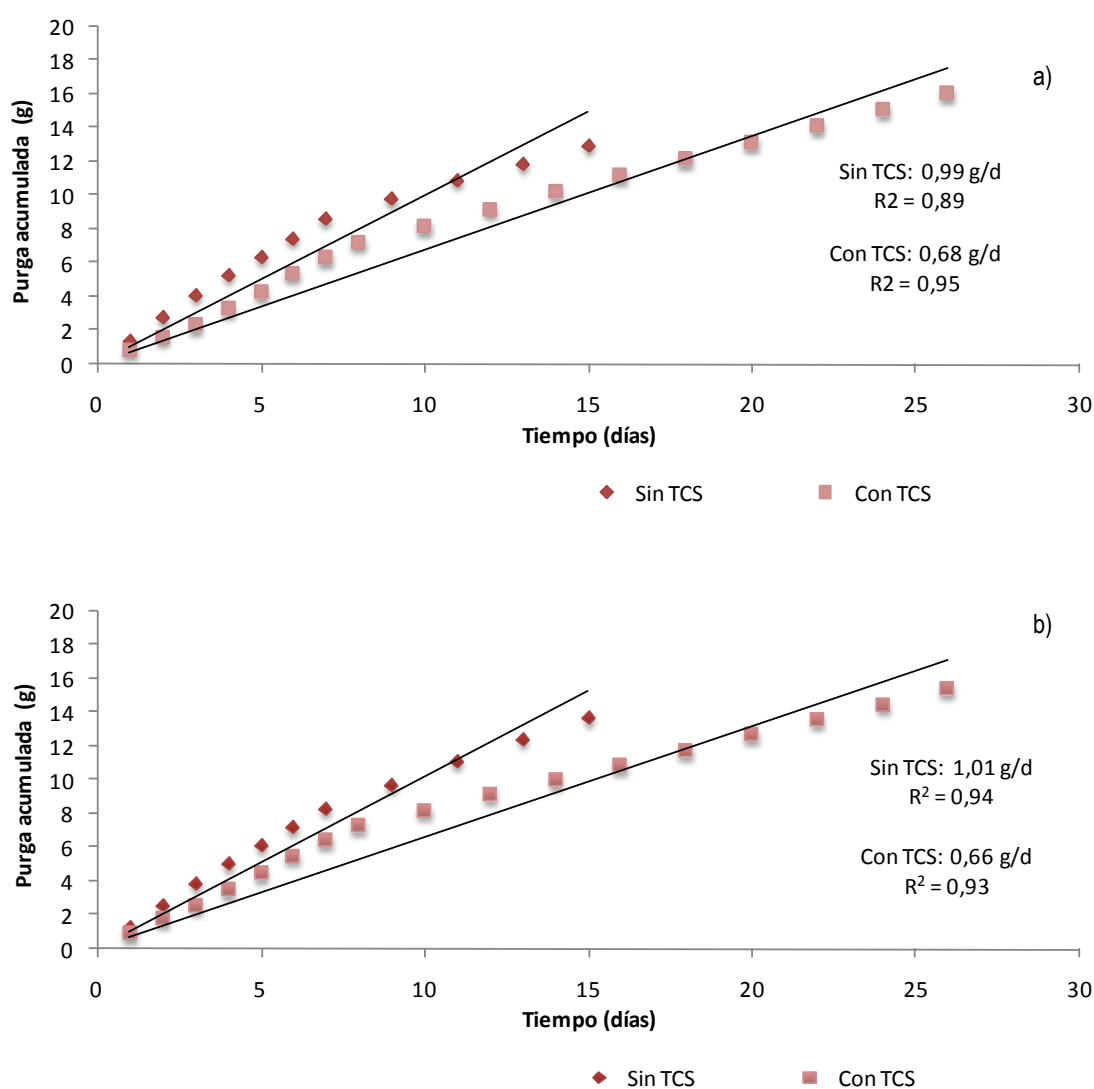


Figura IV.41. Fangos eliminados del sistema para THR= 7 h y dosis a) $0,5 \text{ mg/l}$ y b) 1 mg/l de TCS

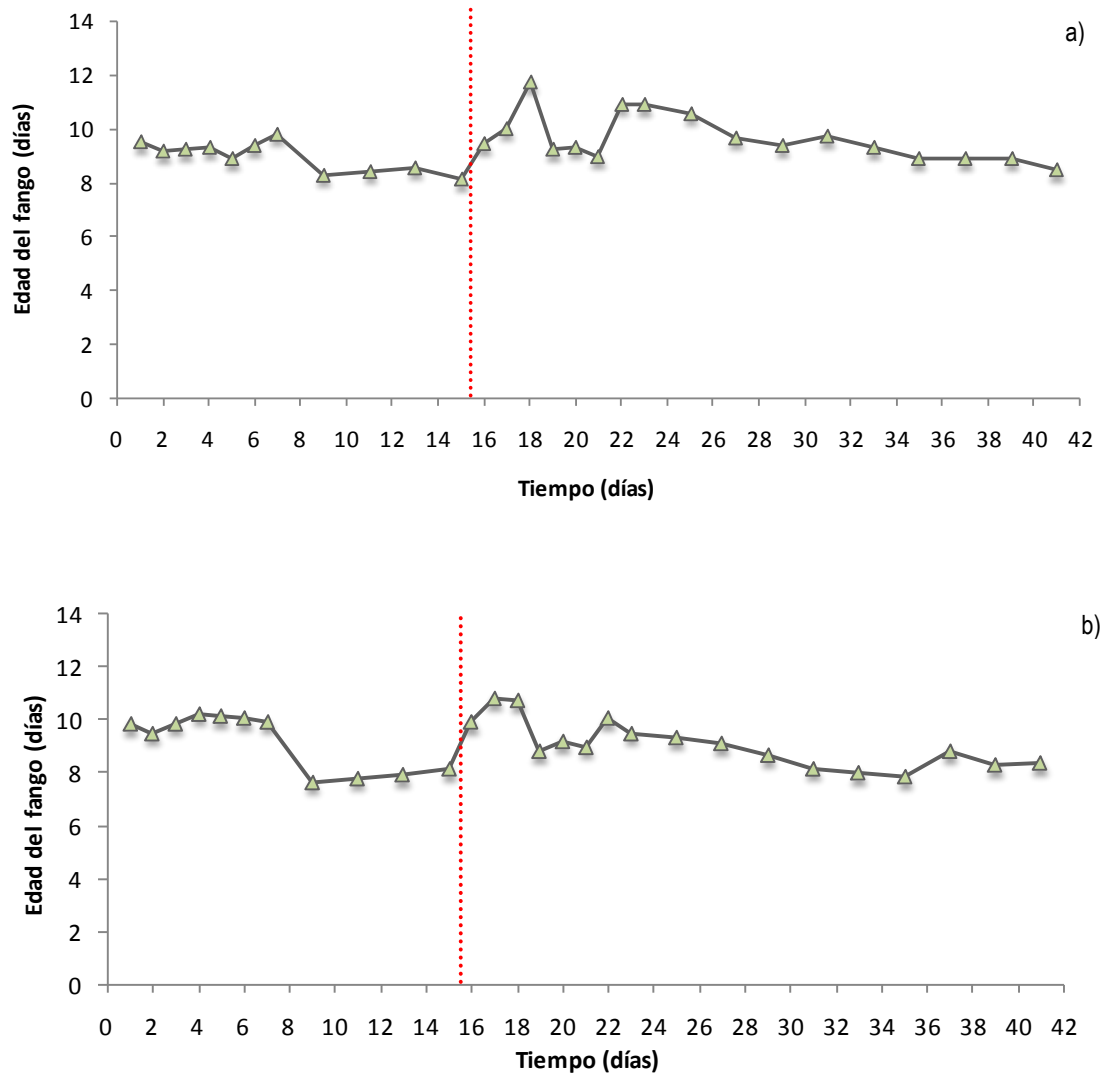
En la figura anterior se observa que durante la fase de aclimatación, la tasa de purga de fangos fue prácticamente idéntica en ambos sistemas: 0,99 g/día en el primer sistema, y 1,01 g/día en el segundo.

Durante la fase de adición diaria del TCS, la cantidad de fangos purgados de ambos sistemas se redujo a 0,66-0,67 g/d, entre un 32-35% aproximadamente. Este descenso fue mucho mayor que el observado en el ensayo con THR de 11 horas. De hecho, en la figura se observa que la separación de las curvas correspondientes a la fase de aclimatación y a la fase de dosificación del TCS es apreciable desde el origen. Es asimismo destacable que, independientemente del tiempo de retención hidráulico aplicado al sistema, la tasa de purga de fangos bajo ambas dosis de TCS se mantuvo en torno a 0,65 g/d.

Si comparamos estas tasas con las obtenidas en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia (0,94 g/día para THR = 7 horas, Figura IV.19), la reducción en la tasa de purga de fangos y, por ende, en la producción de fangos en exceso fue del 30% aproximadamente.

Para finalizar, en la Figura IV.42, se muestra la variación de la edad del fango en cada uno de los sistemas. En esta figura se observa que durante la primera semana del estudio, la edad del fango de ambos sistemas fue de 10 días aproximadamente. Posteriormente, y hasta finalizar la fase de aclimatación, el tiempo de retención celular disminuyó a 8 días, debido principalmente al descenso observado en la concentración de sólidos en las cubas de aireación, ya que la purga de fangos se mantuvo prácticamente constante a lo largo de esta fase.

En la fase de dosificación del TCS, la edad del fango promedio fue de $9,65 \pm 0,88$ días en el sistema con 0,5 mgTCS/l y $9,09 \pm 0,89$ días en el correspondiente a 1mgTCS/l, siendo la curva descrita bastante irregular si la comparamos con la observada para tiempo de residencia de 11 horas (Figura IV.35). En ambos casos, se observaron dos picos en la evolución de este parámetro: uno el día 18 y otro el día 22 de ensayo. Estos máximos se debieron principalmente a la variación de la concentración de sólidos en el reactor de aireación de ambos sistemas ya que, como en la fase de aclimatación de los fangos, el caudal de purgas se mantuvo prácticamente invariable.

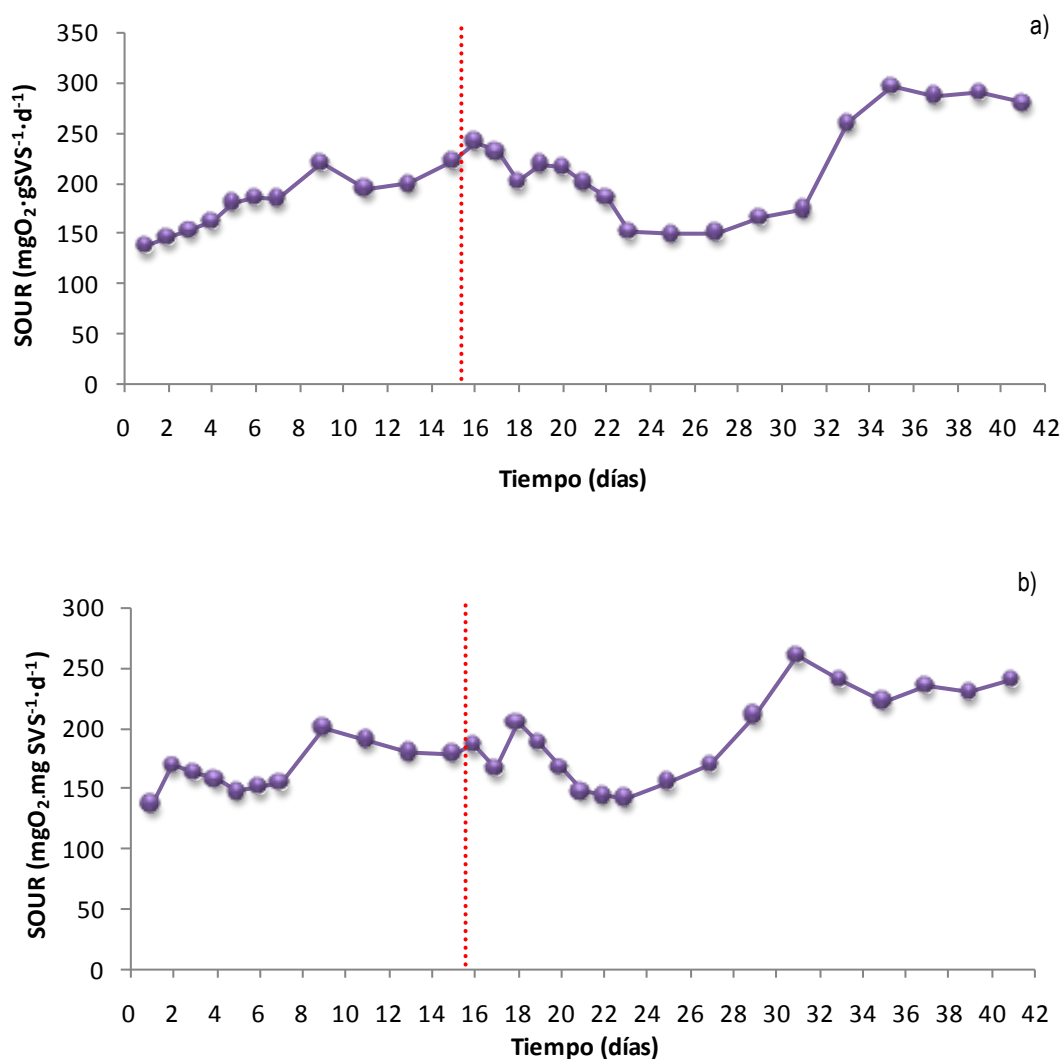


Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.42. Edad del fango en el reactor para $THR = 7h$ y dosis a) $0,5 \text{ mg/l}$ y b) 1 mg/l de TCS

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)

La Figura IV.43 muestra la variación de la actividad respiratoria de los fangos de ambos sistemas, medida a través del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$).



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.43. Evolución del SOUR para THR=7 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS

La evolución del SOUR en ambos sistemas fue muy similar a lo largo de todo el estudio, tal y como puede observarse en la figura anterior. La actividad inicial del inóculo era inferior a 150 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹. A medida que los microorganismos presentes en el medio se adaptaron a las nuevas condiciones de operación, su actividad respiratoria aumentó, de forma gradual en el sistema con 0,5 mgTCS/l y de forma más irregular en el sistema con 1 mgTCS/l. Al final de esta fase, la actividad respiratoria de los fangos se estabilizó en torno a 200 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹ en el primero de los sistemas y 185 mgO₂·gSVS⁻¹·d⁻¹ en el segundo.

Al comenzar la dosificación del TCS, y durante la primera semana, se produjo un descenso importante de la tasa de respiración en ambos sistemas, disminuyendo el SOUR hasta los valores medidos en el inóculo inicial. Este descenso fue más acusado y rápido en el sistema con

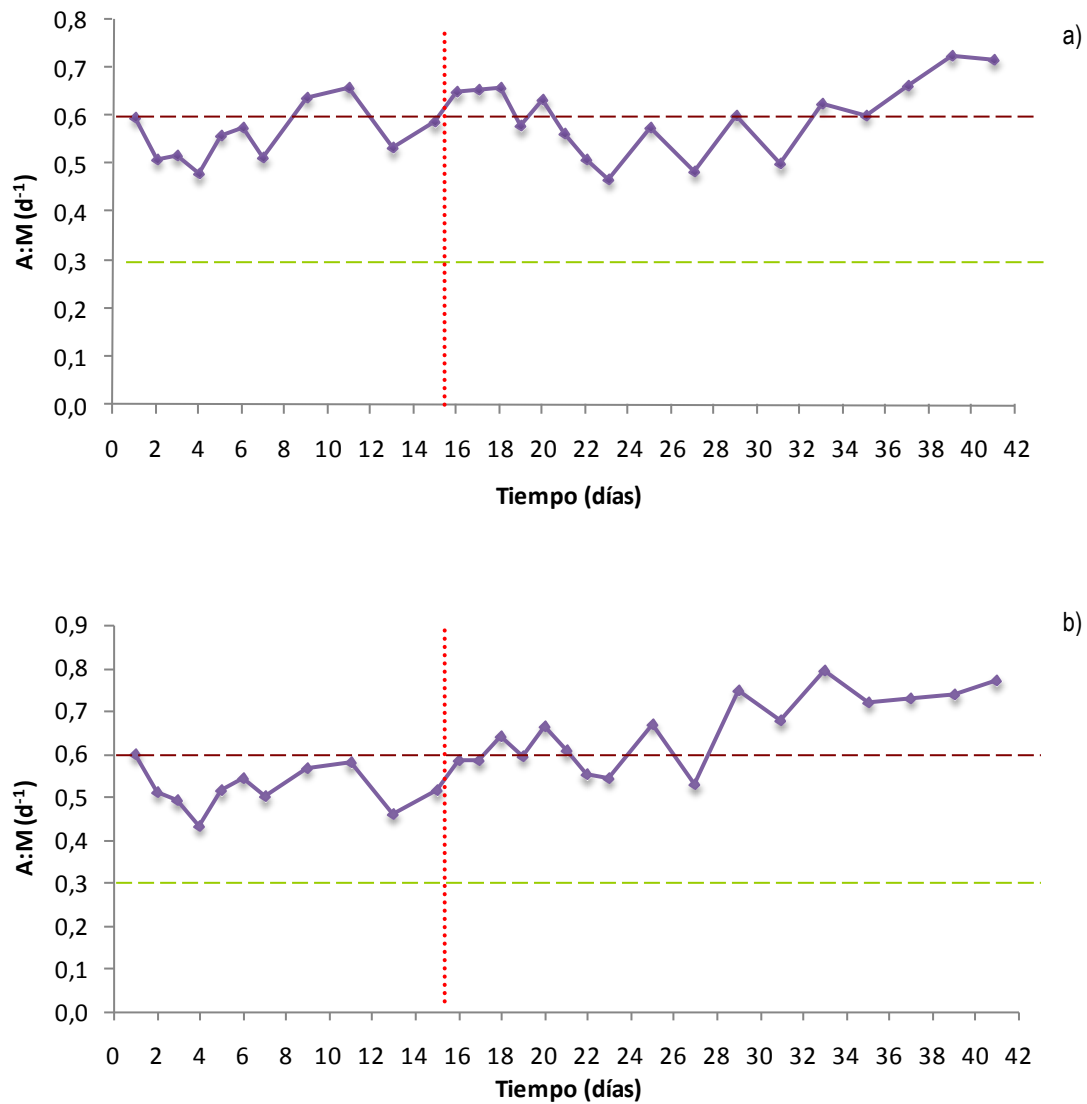
1 mgTCS/l. Como esta tendencia es contraria a la observada en el ensayo con un THR de 11 horas (ver Figura IV.36) y, dado que la disponibilidad del TCS por microorganismos en ningún caso superó los niveles del primer ensayo, este descenso en la actividad respiratoria no puede asociarse a un efecto tóxico del TCS sobre el medio, al menos no antes de analizar la evolución de los distintos parámetros de control aplicados a los dos sistemas.

Asimismo, a partir del día 32, en el sistema con 0,5 mgTCS/l, y del día 23 de ensayo, para 1 mgTCS/l, el SOUR comenzó a aumentar hasta estabilizarse en torno a $280 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en el primero y $230 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en el segundo. Con este aumento, al finalizar el ensayo, la actividad respiratoria de los fangos se incrementó en un 35% y un 27% respectivamente con respecto a la fase de aclimatación de los fangos.

En la Figura IV.44 se muestra la evolución de la relación A:M a lo largo del ensayo para los dos sistemas monitoreados. Como puede deducirse de la figura, la relación A:M para THR de 7 horas fue mayor que para THR de 11 horas (Figura IV.37) debido a que la carga orgánica aplicada al sistema fue mayor.

En la fase de aclimatación, esta relación se mantuvo prácticamente por debajo del límite $0,6 \text{ días}^{-1}$, aunque puntualmente en el primero de los sistemas se superó este valor (Figura IV.44a)). En ambos sistemas, una vez comenzó la adición del TCS, el cociente A:M se mantuvo en torno a $0,5\text{-}0,6 \text{ días}^{-1}$ y sólo en los últimos días de ensayo, se superó dicho límite, registrándose valores superiores a $0,7 \text{ días}^{-1}$. Este incremento pudo motivar el ascenso en la actividad respiratoria observado en los últimos días del ensayo.

Las variaciones observadas en la evolución de la relación A:M estuvieron motivados por las variaciones de biomasa en el reactor de aireación y en la concentración de DQO influente que, aunque fue suministrada como agua residual sintética, presentó algunas fluctuaciones.

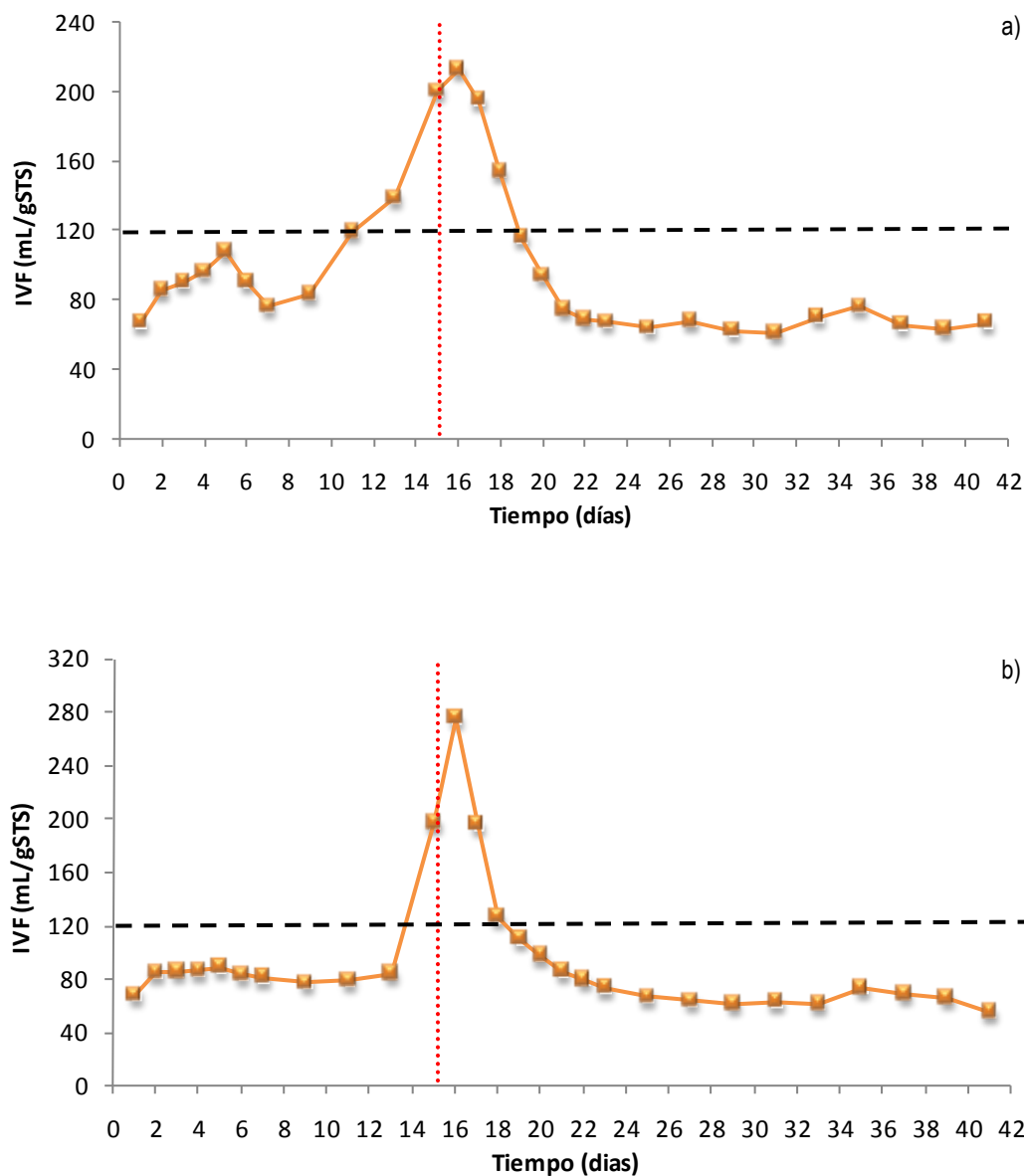


Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS. Las líneas horizontales representan los valores de A:M 0,3 (verde) y 0,6 (marrón)

Figura IV.44. Evolución de la relación A:M para THR=7 h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1mg/l de TCS

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

En la Figura IV.45 se muestra la gran similitud en la evolución del índice volumétrico de fangos medido en los dos sistemas durante el periodo de estudio. En general, la decantabilidad del fango en este ensayo fue buena, tanto en la fase de aclimatación a las condiciones de laboratorio como durante la fase de dosificación continua del TCS.



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.45. Evolución del IVF para THR= 7 h y dosis a) 0,5 mg/L y b) 1 mg/L de TCS

Tan sólo en el día en que comienza a adicionarse el TCS, se produjo un aumento considerable del índice volumétrico de fangos por encima del valor tomado como referencia. En el ensayo bajo THR de 11 horas, también se observó un descenso en la capacidad de sedimentación del fango en los primeros días en los que se adicionó el desacoplador pero no justo en el día en que comenzó su adición, por lo que este aumento pudo no estar directamente relacionado con la dosificación del TCS. Esta conclusión puede sacarse de la Figura IV.45 a), en la que se observa cómo la pérdida de sedimentabilidad del fango se inició días previos a la adición del agente químico (días 12-13).

La observación al microscopio dio como resultado la identificación de un fenómeno de crecimiento masivo de filamentosas en el medio que duró escasamente tres días pero que provocó incluso la pérdida de sólidos a través del efluente ($< 35 \text{ mgSTS/l}$). A partir del día 19 de ensayo, el IVF se mantuvo por debajo de 120 ml/gSTS estabilizándose en torno a 65 ml/gSTS al final del ensayo. Estos valores bajos del IVF indicaron una buena capacidad de decantación de los fangos lo que se observó en el decantador secundario a través de una correcta separación del manto de fangos y el efluente clarificado.

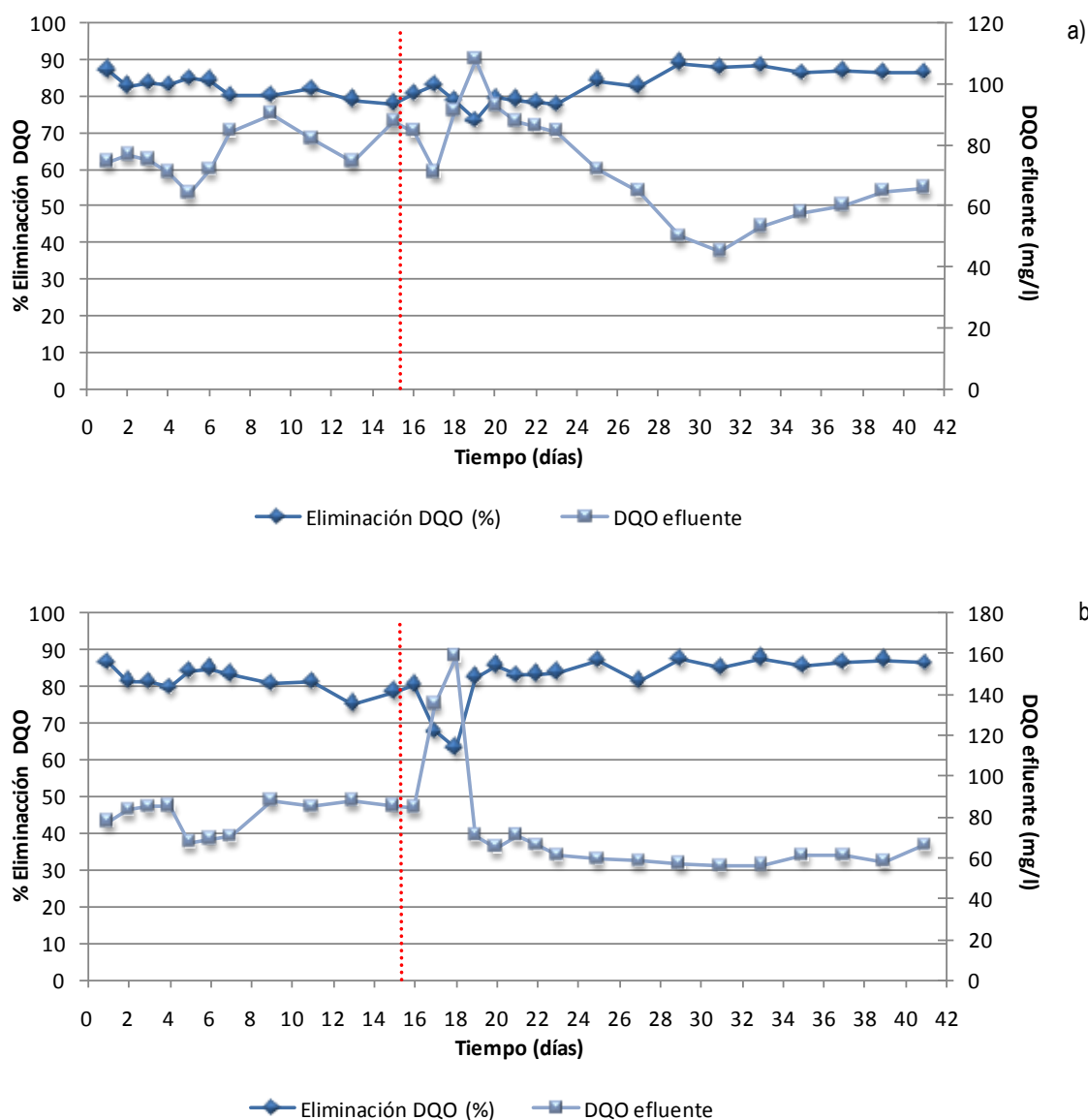
Al analizar conjuntamente las gráficas de relación A:M (Figura IV.44) y el IVF (Figura IV.45) se observa que durante el periodo en el que se incrementó el IVF, la relación A:M se mantuvo en el rango $0,3\text{-}0,6 \text{ días}^{-1}$, aunque cercano al límite superior, pudiendo ser ésta la causa de dicho incremento y del crecimiento incontrolado de organismos filamentosos. No obstante, cabe destacar que, a pesar de que el cociente A:M estuvo fuera del rango que se considera óptimo durante los últimos días de ensayo, el IVF se mantuvo invariable y el fango presentó una buena capacidad de sedimentación.

Tendiendo en cuenta los resultados obtenidos tanto para THR de 11 horas como para THR de 7 horas, es posible concluir que la adición diaria de TCS no alteró la capacidad de sedimentación de los fangos y, por tanto, *a priori* no afectaría a los tratamientos posteriores de estabilización y deshidratación de los fangos en exceso.

Rendimiento de la depuración

217

Al igual que en el ensayo con THR de 11 horas, en la Figura IV.46 se representan conjuntamente el valor de la DQO en el efluente y el rendimiento de ambos sistemas a lo largo del periodo de estudio. En esta figura se observa que, para la planta a la que se añadió $0,5 \text{ mgTCS/l}$, la DQO del efluente final del sistema se mantuvo por debajo del límite de vertido establecido por la legislación española, a la cual ya se ha hecho referencia en capítulos anteriores (125 mgDQO/l). Durante la fase de no adición del TCS, el valor promedio de la DQO fue de $77,5 \pm 7,8 \text{ mg/l}$. Una vez iniciada la dosificación del TCS, el día 19 de ensayo se produjo un pico de DQO siendo el valor de este parámetro en el efluente de 108 mg/l . Este máximo coincidió con el episodio de *bulking* filamentoso observado en dicho sistema en el que el IVF superó los 200 ml/gSTS (ver Figura IV.45 a)). Posteriormente, la calidad del efluente mejoró notablemente identificándose un mínimo de DQO el día 31 de ensayo (45 mg/l). El rendimiento del sistema se mantuvo en todo momento por encima del 75% alcanzándose valores cercanos al 90% durante los últimos 15 días de ensayo, donde igualmente se observó la mayor tasa de respiración de los fangos (ver Figura IV.43 a)).



Nota: la línea roja discontinua representa el día en que comienza a dosificarse el TCS.

Figura IV.46. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente para THR= 7h y dosis a) 0,5 mg/l y b) 1 mg/l de TCS

La evolución de la DQO del efluente del sistema con 1 mgTCS/l fue similar y estuvo casi todo el tiempo que duró el experimento dentro de los límites impuestos por la legislación, a excepción de los días 16 a 18 en los que se produjo un pico de DQO muy elevado que alcanzó los 160 mg/l. La causa de este descenso en la calidad del efluente fue la baja capacidad de sedimentación (altos valores de IVF) registrados en dicho sistema y la consecuente pérdida de flóculos biológicos a través del efluente. En ese momento, el rendimiento del sistema disminuyó al 63%. Una vez desapareció el *bulking* y cesó la salida de flóculos del sistema a través del efluente, la DQO se estabilizó en torno a 60 mg/l, siendo el rendimiento del sistema superior al 85%.

A la vista de los resultados, es posible concluir que el rendimiento del sistema estuvo controlado por la pérdida de flóculos a través del efluente y, en ningún caso, la adición del TCS perturbó la capacidad de depuración del sistema.

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

En este apartado se presentan los resultados del seguimiento de las poblaciones microbianas en el fango activo realizado en el ensayo de adición del TCS bajo tiempo hidráulico de residencia de 7 horas.

El inóculo inicial se caracterizó por la presencia de organismos ciliados reptantes de la familia *Espirotricos* de tamaño medio. También se observaron algunos organismos sésiles, individuales (*Vorticellas*) y en colonias (*Epistylis*). Igualmente se distinguieron algunos filamentos en los flóculos creando la estructura de cohesión. A tenor de las poblaciones presentes en el inóculo inicial, es posible afirmar que el fango de partida estaba adaptado a las condiciones de operación de la EDAR siendo un fango maduro y estable. Al cambiar la alimentación real por la sintética se produjo la esperada desestabilización de la comunidad microbiana. Los zooflagelados se convirtieron en la población dominante desapareciendo los ciliados sésiles filtradores, y el tamaño de los flóculos disminuyó (gran mayoría de bacterias dispersas). A medida que transcurrió el periodo de aclimatación, las poblaciones de pequeños flagelados comenzaron a descender y a dar paso a organismos superiores de la familia de los *Espirotricos* (*Aspidica* sp., principalmente).

El día 15 de ensayo, la comunidad microbiana había alcanzado un grado de madurez medio pues, a parte de la *Aspidiscas*, se observaron otros protozoos ciliados como *Litonotus* sp. y algunas *Vorticellas*. Cabe destacar que justo en el día en que comenzó la adición diaria del TCS, en ambos sistemas se observó un crecimiento masivo de bacterias filamentosas, constituyéndose como población dominante en el fango activo y desarrollando el fenómeno de *bulking*. El grado de disgregación de flóculos fue máximo aportando al fango un aspecto de “nube de algodón” y provocando la pérdida de fangos a través del efluente final del sistema. Este *bloom* de filamentosas apenas duró un par de días. Posteriormente, el grado de diversidad poblacional aumentó nuevamente en ambos reactores, siendo los organismos más abundantes *Aspidiscas* sp., seguidas de las poblaciones de *Vorticellas* y colonias de *Epistylis*.

A medida que transcurrió el ensayo, comenzaron a aparecer poblaciones de metazoos, principalmente rotíferos y algunos nematodos, indicando un elevado grado de madurez del fango. La presencia de estos organismos superiores se reflejó igualmente en la tasa de respiración del fango que aumentó notablemente en los últimos días de ensayo, como ya ha sido comentado en un apartado anterior (ver Figura IV.43). Igualmente, la aparición de estos organismos superiores produjo en una mayor calidad del efluente.

Los cambios poblacionales observados en los dos sistemas a los que se adicionó el TCS pueden ser considerados como una sucesión típica de microorganismos en un fango activo, no observándose ningún efecto destacable del agente desacoplador sobre la comunidad microbiológica no bacteriana. Para evaluar el efecto del TCS sobre las bacterias se realizó un conteo de bacterias totales y activas cuyos resultados quedan recogidos en la Tabla IV.22.

Tabla IV.22. Recuento de células totales y activas en sistemas con 0,5 y 1 mgTCS/l bajo THR= 7 h.

Día de ensayo	Células totales-DAPI (x 10 ⁹ cel./ml)		Células activas-CTC (x 10 ⁹ cel./ml)		% Cél. Activas	
	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l
15	41,9	42,5	9,4	7,5	22	18
21	31,6	34,9	5,9	6,5	19	19
27	28,2	22,3	5,0	3,9	18	17
32	32,4	25,8	7,2	5,2	22	20
37	31,1	23,7	6,7	4,1	21	17
42	33,3	26,7	7,9	5,8	24	22

A diferencia de lo observado en el ensayo bajo THR de 11 horas (Tabla IV.19), el porcentaje de células activas se mantuvo prácticamente constante a lo largo del periodo de adición del TCS (en torno al 20%). No obstante, como ya ha sido comentado en apartados anteriores, para los dos sistemas la cantidad de TCS por mg de biomasa se mantuvo muy constante a lo largo de todo el periodo de estudio no superándose en ningún caso los 0,45 mgTCS/mgSVS, un valor muy alejado de los 0,65 mgTCS/mgSVS registrados en el ensayo bajo THR de 11 horas.

Tanto en el reactor con 0,5 mgTCS/l como en el correspondiente a 1 mgTCS/l, se observó que la concentración de células totales y activas descendió en los primeros días en los que comenzó a adicionarse el TCS pero luego se estabilizó, incluso aumentó en los últimos días de ensayo. En líneas generales la cantidad de células/ml siguió la misma tendencia que la concentración de sólidos volátiles en el tanque de aireación. Al igual que en el ensayo con THR de 11h, la evolución de la tasa de respiración exógena (SOUR) no coincidió con los recuentos de células totales y activas, salvo en los últimos días de ensayo en los que se observó un repunte de la actividad tanto a nivel macroscópico como a nivel microscópico.

Si comparamos estos valores medios con los obtenidos bajo las mismas condiciones de operación pero sin la adición diaria de TCS, cuyos resultados quedan reflejados en la Tabla IV.7

(22% de activas para THR=7 h), se observa que los porcentajes de células activas no se vieron afectadas por la presencia del agente desacoplador en el medio. Este hecho contrasta con los resultados obtenidos bajo THR de 11 horas en el que se observó un descenso importante en el porcentaje de células activas durante el periodo de dosificación del TCS. En cualquier caso, tenga o no un efecto perjudicial el TCS sobre la microbiota activa, los rendimientos en eliminación de materia orgánica obtenidos en ambos ensayos deja en un segundo plano la posible inhibición.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

Al igual que para THR de 11 h, en los días 15 y 42 de ensayo, que corresponden al final de las etapas de aclimatación y dosificación del TCS, se realizó un test discontinuo para la determinación de la tasa de crecimiento del fango activo. En las tablas IV.23 y IV.24 se muestran los resultados obtenidos en cada uno de ellos.

Tabla IV.23. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos previa a la dosificación de TCS (THR=7h).

Tiempo (h)	SVS(mg/l)		DQO (mgO ₂ /l)		Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)	
	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2	Planta 1	Planta 2
0	2.900	2.850	1064,42	1030,63	-	-
2	3.200	3.150	642,03	642,03	-	-
5	3.300	3.350	371,70	337,91	-	-
24	3.480	3.400	182,47	195,99	0,66	0,63

En la Tabla IV.23 se observa que la tasa de crecimiento bacteriano en los sistemas de fangos activos una vez finalizada la fase de aclimatación a las condiciones de laboratorio, fue de $0,64 \pm 0,02$ mgSVS/mgDQO. Este resultado es mayor que el obtenido para THR de 11 horas, siendo éste el comportamiento esperado. También es superior al valor de la tasa de crecimiento obtenido en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia (ver Tabla IV.9) en el cual se obtuvo un Y_{obs} de 0,47 mgSVS/mgDQO para THR de 7 horas. El incremento neto de sólidos a las 24 horas fue de 580 mg/l en el primer sistema y 550 mg/l en el segundo. El consumo de DQO fue de 881,95 mg/l y 834,64 mg/l en ambos sistemas. Cabe destacar que a las 2 horas de iniciar el test, ya se había consumido el 40% aproximadamente de la DQO presente en el

medio en ambos sistemas, lo que indica una alta velocidad de degradación de la materia orgánica por parte de los microorganismos presentes en el fango activo.

Tabla IV.24. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada para los fangos dosificados con TCS (THR=7h).

Tiempo (h)	SVS(mg/l)		DQO (mgO ₂ /l)		Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)	
	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l	0,5 mg /l	1 mg/l
0	2.580	1.930	1469,91	1537,49	-	-
2	2.700	2.270	1098,21	1216,48	-	-
5	2.840	2.370	608,24	878,57	-	-
24	2.980	2.440	152,06	135,16	0,30	0,36

En cuanto a los fangos dosificados con TCS, la tasa de crecimiento determinada en el sistema con 0,5 mgTCS/l fue 0,30 mgSVS/mgDQO, mientras que para 1 mgTCS/l fue levemente superior (0,36 mgSVS/mgDQO) por lo que es posible calcular un valor medio del ensayo ($0,33 \pm 0,04$ mgSVS/mgDQO). Si comparamos este valor con el valor medio obtenido al finalizar la etapa de adaptación de los fangos a las condiciones de laboratorio, la reducción de la tasa de crecimiento por la presencia en el medio del TCS alcanzó el 48%. Este porcentaje de reducción fue mucho mayor que el registrado en el ensayo bajo THR de 11 horas (31,5%).

El incremento neto de biomasa en el test de 24 horas fue 400 mg/l en el reactor con 0,5 mgTCS/l y 510 mg/l en el de 1 mgTCS/l. La materia orgánica consumida fue, respectivamente, 1.317,85 mgDQO/l y 1.402,33 mgDQO/l. Por tanto, el descenso en la tasa de crecimiento en los reactores a los que se añadió el TCS se debió tanto a una menor producción de biomasa como a un mayor consumo de materia orgánica. A pesar de que el consumo de materia orgánica fue mayor en presencia del TCS, la velocidad de consumo fue menor ya que al cabo de las 2 horas del inicio del ensayo, el porcentaje de metabolización y eliminación de materia orgánica no alcanzó el 25%, mientras que el porcentaje era del 40% en el test con fangos aclimatados, como ya ha sido comentado.

Si comparamos estos valores con el obtenido en el ensayo de la influencia del tiempo de residencia en la producción de fangos comentado en el capítulo IV.2 ($Y_{obs} = 0,47$ mgSVS/mgDQO para THR=7 horas), la reducción en la tasa de crecimiento se establece en un 29%, un descenso del mismo orden de magnitud que las obtenidas durante los ensayos preliminares así como los recogidos en trabajos de otros autores (Chen *et al.*, 2003).

En este punto es interesante recordar que el Y_{obs} obtenido en el ensayo de THR de 11 horas para los fangos dosificados con TCS fue 0,39 mgSVS/l, un valor muy similar al obtenido bajo las condiciones de THR de 7 horas. Por tanto, podemos afirmar que, independientemente de las condiciones de operación de la planta, la tasa de crecimiento de los fangos dosificados con 0,5-1 mgTCS/l se situó en el rango 0,30-0,40 mgSVS/mgDQO.

Conclusiones

En este capítulo se han presentado los resultados del seguimiento realizado sobre un sistema de lodos activos a escala de laboratorio al que se añadió de forma diaria el TCS, y que fue operado bajo dos tiempos hidráulicos de residencia distintos (7 y 11 horas) y dos dosis de TCS (0,5 y 1 mg/l). En líneas generales, es posible concluir que el efecto del TCS sobre el fango activo fue similar bajo las dos condiciones de ensayo aplicadas, aunque con ciertos matices que han sido discutidos a lo largo de la presentación de los datos.

La adición del TCS en el rango de 0,5-1 mg/l ha permitido disminuir la purga de fangos, objetivo principal del presente estudio, entre un 20-35%, en términos de gramos purgados por día. Estos descensos son muy significativos y sus implicaciones a nivel de gestión de las instalaciones de depuración importantes, aunque este aspecto será tratado con más detalle en un capítulo posterior del presente documento. En ninguno de los casos analizados se observó un descenso en el rendimiento del sistema en presencia del agente desacoplador. De hecho, el porcentaje de eliminación de materia orgánica (DQO) se mantuvo por encima del 80% en todas las experimentaciones desarrolladas.

A nivel microscópico tampoco se apreciaron efectos significativos por la adición del TCS. La sucesión de poblaciones protozoarias en las cubas de aireación fue la esperada: el inóculo estaba adaptado a las condiciones de operación impuestas en la EDAR y, al cambiar la alimentación de los fangos, se produjo una desestabilización del sistema obteniéndose un fango inmaduro que poco a poco fue aclimatándose a las nuevas condiciones de operación. La adición del TCS no produjo alteración en la sucesión de poblaciones y los episodios de *boom* de filamentosas no pueden explicarse por la presencia del agente desacoplador, tal y como se ha comentado en los apartados anteriores. No obstante, los recuentos de bacterias totales y activas mediante la doble tinción con los fluorocromos DAPI y CTC aportaron resultados no muy positivos, sobre todo en el ensayo bajo THR de 11 horas, donde se observó un descenso significativo en el porcentaje de células activas. Esta posible inhibición por parte del TCS, no se detectó a nivel macroscópico pues la tasa específica de respiración incluso aumentó en el transcurso de los ensayos realizados.

En cuanto a la capacidad de sedimentación de los fangos, la evolución del IVF observada en todas las condiciones y concentraciones analizadas, indicó que el TCS no altera esta característica de los fangos por lo que *a priori* no interferiría en la separación del agua clarificada

de los fangos biológicos ni en los tratamientos posteriores de deshidratación y estabilización de las purgas.

A pesar de estos buenos resultados, la adición del TCS debe realizarse con sumo cuidado. En este ensayo se ha observado que un aumento del cociente TCS/microorganismos puede afectar negativamente a la actividad respiratoria de los fangos, y podría poner en peligro la eficiencia del sistema. Por ello, se estima necesario realizar un control continuo de la carga de TCS aplicada sobre los microorganismos, regulando la dosis suministrada en función de la concentración de biomasa viable del sistema.

Igualmente, se desconoce la parte de TCS que se acumula en el sistema, bien asimilado por los microorganismos o absorbidos en los flóculos biológicos, y la parte que se libera al medio a través del efluente. No obstante, debido a la baja solubilidad del TCS, es muy probable que todo el TCS tienda a acumularse en el fango y sea muy poca la cantidad que sea vertida al medio con el efluente final. Por ello, sería necesario realizar un seguimiento del TCS, comprobando la cantidad del compuesto que se bioacumula y que podría interferir en el uso posterior de los fangos. No obstante, el Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario, no contempla el TCS entre los contaminantes que deben ser controlados en los fangos, ya que sólo se centra en el contenido en metales pesados. Igualmente, el TCS no se encuentra en listado de los contaminantes prioritarios recogido en la Directiva Marco del Agua 2000/60/CE.

IV.4. El proceso OSA (oxic-settling-anaerobic) para reducir la producción de lodos de depuradora.

IV.4.1. Introducción

La segunda de las estrategias seleccionadas para probar su capacidad de reducir la producción de fangos en una unidad de lodos activos a escala de laboratorio, fue el denominado proceso OSA: *oxic-settling-anaerobic process*. Este proceso consiste en intercalar un reactor anóxico/anaerobio en la línea de recirculación de fangos desde el decantador secundario al tanque de aireación, con el objeto de provocar un desajuste en el metabolismo microbiano que tenga como resultado la limitación del crecimiento y, consecuentemente, una menor producción de fangos residuales. Cuando los microorganismos presentes en el fango activo atraviesan la cámara anóxica, se produce un agotamiento de las reservas energéticas celulares como respuesta al estrés producido por la ausencia de oxígeno. Al volver nuevamente al tanque de aireación y las condiciones aerobias, se acelera la producción de ATP que se destina principalmente a la recuperación de las reservas celulares de energía y, secundariamente, a los procesos de síntesis celular.

En el capítulo de Antecedentes Bibliográficos se presenta el fundamento teórico de esta estrategia y se muestran las diferencias entre esta cámara anóxica para la reducción de fangos y la empleada en un esquema de tratamiento con eliminación biológica de nitrógeno. La Figura IV.47 muestra un esquema del proceso:

225

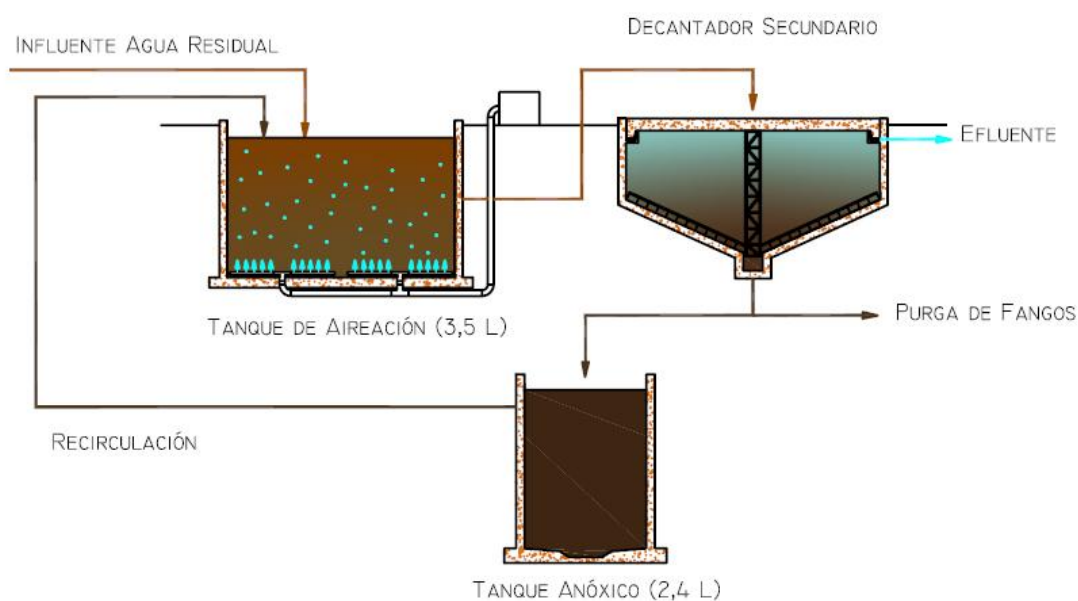


Figura IV.47. Esquema del proceso OSA a escala de laboratorio.

Algunos estudios han comprobado la eficacia del proceso OSA para reducir la producción de fangos en exceso en un sistema de lodos activos (Saby *et al.*, 2003). Estos autores observaron que, además de una menor producción de fangos, el proceso OSA presentaba otras ventajas como un mayor rendimiento en la eliminación de materia orgánica y una mayor capacidad de sedimentación de los fangos. Igualmente, estos autores detectaron que el potencial de oxidación-reducción en el tanque de retención anóxico juega un papel importante en la disminución de la producción de fangos llegando a establecer que un nivel de ORP (*oxidation-reduction potencial*) inferior a +100 mV estimula de forma importante esta reducción.

En este apartado se presentan los resultados del seguimiento realizado sobre el sistema de lodos activos bajo el proceso OSA, haciendo hincapié principalmente en la cantidad de fangos residuales generados en el sistema y purgados del mismo.

IV.4.2. Material y métodos

El fango empleado para la inoculación y puesta en marcha de la unidad a escala de laboratorio fue recolectado de la EDAR “El Trocadero”, al igual que en el resto de los experimentos desarrollados en este trabajo de investigación. El periodo de aclimatación de los fangos a las condiciones de operación de laboratorio se prolongó durante 15 días. Tras este periodo, se procedió a incorporar un reactor anóxico en la línea de recirculación de los fangos, para configurar así el esquema de tratamiento OSA (ver Figura IV.47).

La cámara anóxica tenía un volumen de 2.400 ml y estaba provista de un sistema para la salida de los posibles gases generados durante la estancia de los fangos en condiciones de anoxia. No obstante, la producción de “biogas” se previó prácticamente inexistente ya que en la cámara no se esperaba la generación de una biomasa anaerobia estable tanto por el bajo tiempo de residencia de los fango en la misma como por la continua circulación del fango por las etapas aerobia-anóxica.

El caudal de recirculación del decantador secundario al tanque de aireación y, consecuentemente, de alimentación a la cámara anóxica, se estableció inicialmente en 0,27 l/h, de forma que el THR en dicha cámara fue de 9 h aproximadamente.

El contenido del reactor anóxico se homogeneizó mediante un agitador magnético. La siguiente figura muestra una foto de detalle de la cámara anóxica empleada en estos ensayos.



Figura IV.48. Detalle de la cámara anóxica-anaerobia intercalada en la recirculación del sistema de fangos activos

Dado que la cantidad de fango acumulada en el decantador secundario era muy pequeña tras los primeros 15 días de funcionamiento del sistema, e insuficiente para inocular la cámara anóxica, se decidió incorporar más fango al sistema, aunque éste no estuviera aclimatado a las condiciones de laboratorio. En un primer momento se pensó en inocular el reactor anóxico con fangos procedentes del reactor anaerobio de alguna de las EDAR de la zona de la Bahía de Cádiz que dispone de dicha tecnología. Sin embargo, esta opción se descartó ya que la población anaerobia tardaría más en adaptarse a las condiciones del ensayo disminuyendo previsiblemente los rendimientos de eliminación de materia orgánica. Por ello, para facilitar la puesta en marcha del nuevo esquema de tratamiento, se decidió nuevamente inocular dicho reactor con fangos procedentes de la cuba de aireación de la EDAR “El Trocadero”.

Durante el periodo de estudio, y debido a la propia evolución de los parámetros de seguimiento que a continuación serán expuestos, se variaron los caudales de alimentación y recirculación alterándose igualmente los tiempos de residencia tanto en el reactor aerobio como en la cámara de anoxia. El siguiente cuadro resume las distintas condiciones bajo las que fue operada la unidad de lodos activos.

Tabla IV.25. Etapas de trabajo y condiciones de operación características bajo el esquema OSA

Etapas	Periodo (días)	Q alimentación (l/h)	THR_{cuba} aireación (h)	Q recirculación (l/h)	THR_{reactor anóxico} (h)
1	1-15	0,3	11	0,3	—
2	16-30	0,3	11	0,27	9
3	31-43	0,3	11	0,43	6
4	44-57	0,5	7	0,43	6

El ensayo se dividió en cuatro etapas, correspondiendo la primera de ellas a la fase de aclimatación de los fangos. Durante la segunda, tercera y cuarta etapa el sistema operó bajo el esquema de tratamiento OSA. Como se observa en la tabla anterior, durante el desarrollo del experimento la planta fue operada bajo dos tiempos hidráulicos de residencia distintos (7 y 11 horas) para así poder comparar los resultados con los obtenidos con otras estrategias.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en el seguimiento de la unidad a lo largo del periodo de estudio, así como los obtenidos en los ensayos discontinuos realizados para la determinación de la tasa de crecimiento del fango activo.

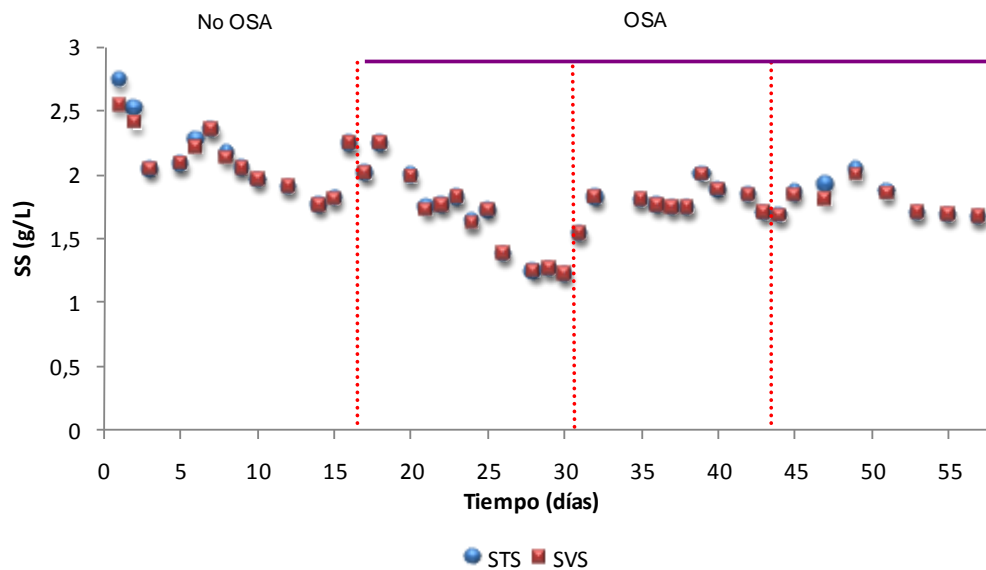
IV.4.3. Resultados del seguimiento del sistema bajo el esquema de tratamiento OSA.

En este apartado se exponen los resultados del seguimiento realizado al sistema de lodos activos, antes y durante la intercalación en la línea de recirculación de fangos de la cámara anóxica.

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

La Figura IV.49 muestra la evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión en el tanque de agitación a lo largo del ensayo. Como se observa en esta figura, tras inocular el sistema con los fangos procedentes de la EDAR, la concentración de sólidos totales y volátiles en suspensión en el reactor era de 2,74 y 2,54 g/l, respectivamente. Durante los primeros días de experimentación, y al igual que lo observado tanto en el ensayo de tiempo hidráulicos de residencia (capítulo IV.2) como en el correspondiente a la adición del TCS (capítulo IV.3), se produjo una pérdida rápida de fangos en el reactor de aireación. Asimismo, durante estos

primeros días, el efluente presentó una alta turbidez debido a la presencia de microflóculos. De hecho, la concentración de sólidos en el efluente superó el límite legislativo (35 mg/l), llegando incluso a valores cercano a 75 mg/l.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.49. Evolución de los STS y SVS en el tanque de aireación bajo el esquema OSA

A partir del día 5 de ensayo, el descenso en la concentración de sólidos en el reactor se frenó y los sólidos se estabilizaron en torno a 2 g/l. También desapareció el fenómeno de *pin-floc* (microflóculos) y la concentración de sólidos en suspensión del efluente se situó por debajo del límite de detección (< 5 mg/l). Al finalizar esta etapa de aclimatación, la concentración de sólidos en el reactor era de 1,8 gSTS/l aproximadamente y el porcentaje de sólidos volátiles había alcanzado el 100%.

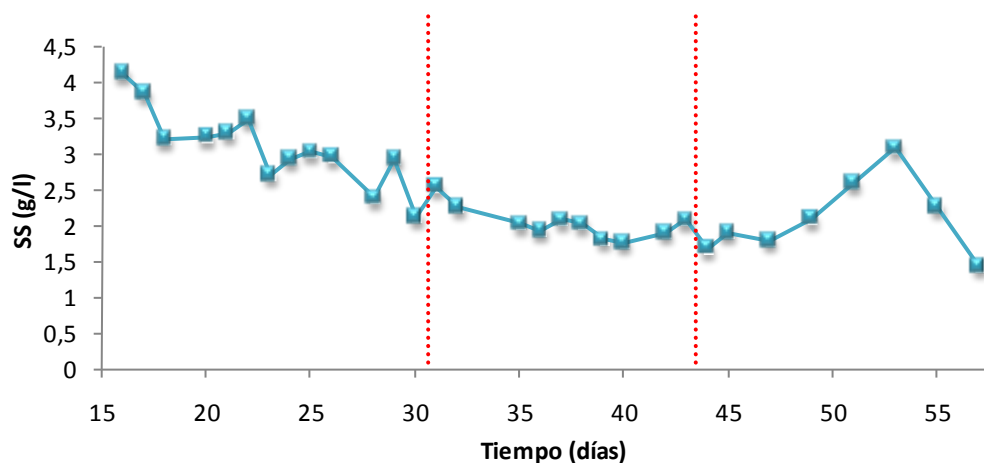
El día 15 de ensayo se dio por finalizada la etapa de aclimatación y se incorporó la cámara de retención anóxica en la línea de recirculación de fangos (etapa 2). Como ha sido comentado anteriormente, este reactor se inoculó con fangos biológicos de la EDAR “El Trocadero”, con una concentración inicial de 4 gSTS/l. La evolución de los sólidos en suspensión en la cámara anóxica se discutirá más adelante.

Durante la primera fase de operación bajo el esquema OSA, se observó un repunte inicial en la concentración de sólidos en el tanque de aireación motivado por el aporte de nueva biomasa al sistema a través de la cámara anóxica. Posteriormente, la concentración de sólidos disminuyó y, entre los días 20 y 25 de ensayo, se estableció en $1,78 \pm 0,12$ g/l. A partir del día 25 se observó nuevamente un descenso gradual de la concentración de sólidos en el reactor, de manera que al final de esta etapa, el contenido en sólidos descendió a 1,24 g/l. Ante esta evolución, y a fin de evitar el lavado de la biomasa en el reactor, se decidió aumentar el caudal de recirculación de

0,27 a 0,43 l/h y de esta forma recuperar los niveles de sólidos en el tanque de aireación. La tercera etapa del ensayo, definida por un cociente Q_r/Q_a mayor a 1, se caracterizó por una relativa estabilidad en la concentración de sólidos en el tanque de aireación que se mantuvo en torno a $1,78 \pm 0,12$ g/l.

Finalmente, en la última de las etapas del ensayo, se decidió aumentar el caudal de alimentación al tanque de aireación, de forma que el THR se situó en 7 horas. El efecto inmediato observado en la concentración de sólidos fue un aumento, siendo ésta la respuesta esperada al incremento de la carga orgánica aplicada al sistema. No obstante, al final de esta etapa la concentración de sólidos volvió a descender y se estabilizó en torno a $1,73 \pm 0,09$ g/l.

Para poder evaluar el efecto global del proceso OSA sobre la producción de fangos es necesario, igualmente, analizar la evolución de los sólidos en el reactor anóxico. La Figura IV.50 muestra la variación de los sólidos en suspensión observada en dicho reactor durante el estudio realizado.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.50. Evolución de los sólidos en la cámara anóxica bajo el esquema OSA

Se observa que la concentración de sólidos en la cámara anóxica describió una tendencia descendente a lo largo del ensayo. Los valores medios obtenidos en cada una de las etapas en las que se divide el ensayo fueron $3,09 \pm 0,54$ g/l, $2,04 \pm 0,23$ g/l y $2,10 \pm 0,54$ g/l, respectivamente. La etapa 3 de ensayo (días 31 a 43) fue la más estable en cuanto al contenido en sólidos en suspensión en la cámara anóxica. Este hecho se refleja en la menor desviación estándar de los valores promedio calculados para cada una de las fases de estudio. El descenso observado durante la etapa 2 (días 15 a 30) estuvo motivado por la inercia del sistema a la pérdida de sólidos en suspensión. De hecho, este descenso no sólo se observó en la cámara de retención anóxica sino también en la propia línea de recirculación y purga de fangos. La

irregularidad observada en última de las etapas se debió a problemas operativos en la recirculación de fangos y la cámara anóxica (paradas del sistema de agitación).

Una vez analizado el comportamiento de los sólidos en suspensión tanto en el tanque de aireación como en la cámara anóxica, en la siguiente figura se muestra la cantidad acumulada de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas y la tasa de purga de fangos que las caracterizó.

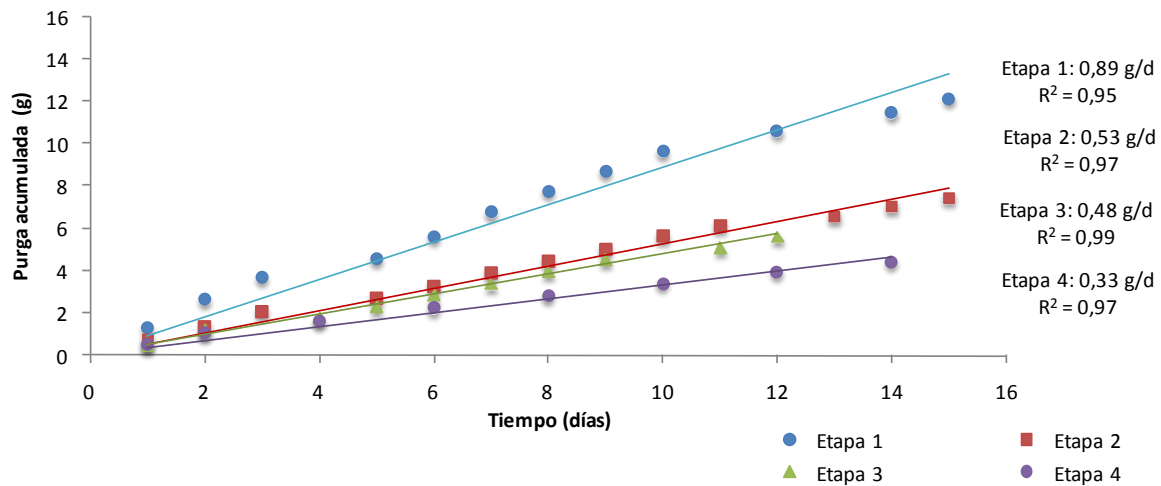


Figura IV.51. Cantidad de fangos eliminados diariamente del sistema bajo el esquema OSA

Durante la etapa de aclimatación, la purga de fangos diaria se estableció en 0,89 g/d, el máximo valor registrado en todo el ensayo. Una vez introducido el reactor de retención anóxico en la línea de recirculación (etapa 2), la purga de fangos disminuyó notablemente hasta 0,53 g/d, un 40% inferior a la determinada durante la fase de aclimatación de los fangos. Al aumentar el caudal de recirculación y, por tanto, disminuir el tiempo de residencia de los fangos en el reactor anóxico (etapa 3), la tasa de eliminación de lodos descendió hasta 0,48 g/d (un 46% menor). La tasa mínima se obtuvo para la última de las etapas del ensayo, siendo el valor de 0,33 g/d, lo que supuso una reducción del 63%. Estos descensos en la purga de fangos son superiores a los registrados con el TCS, por lo que, en principio, el proceso OSA es más eficaz en la reducción de la producción de fangos en exceso. Si se toman de referencia los valores obtenidos en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia (ver Figura IV.18 y Figura IV.19), los porcentajes son incluso mayores.

El descenso observado en la cantidad de fangos eliminados diariamente del sistema se debió a una menor acumulación de fangos en el decantador secundario y no a una reducción del volumen de purga el cual se mantuvo prácticamente constante a lo largo de todo el ensayo (en torno a 60 ml).

Considerando las concentraciones medias de sólidos de cada una de las etapas y el volumen de cada uno de los reactores (aerobio-3,5 l- y anóxico-2,4 l), teniendo además en cuenta la cantidad de fangos purgados del sistema en cada una de las etapas y despreciando, por último, la cantidad acumulada en el decantador secundario (apenas se acumulaba por el alto caudal de recirculación impuesto), es posible evaluar la cantidad de fangos total en el sistema. La Tabla IV.26 recoge los resultados de este balance que permite tener hacer una valoración final del efecto de la incorporación de la cámara de anoxia en la línea de recirculación de los fangos sobre la producción de fangos en exceso.

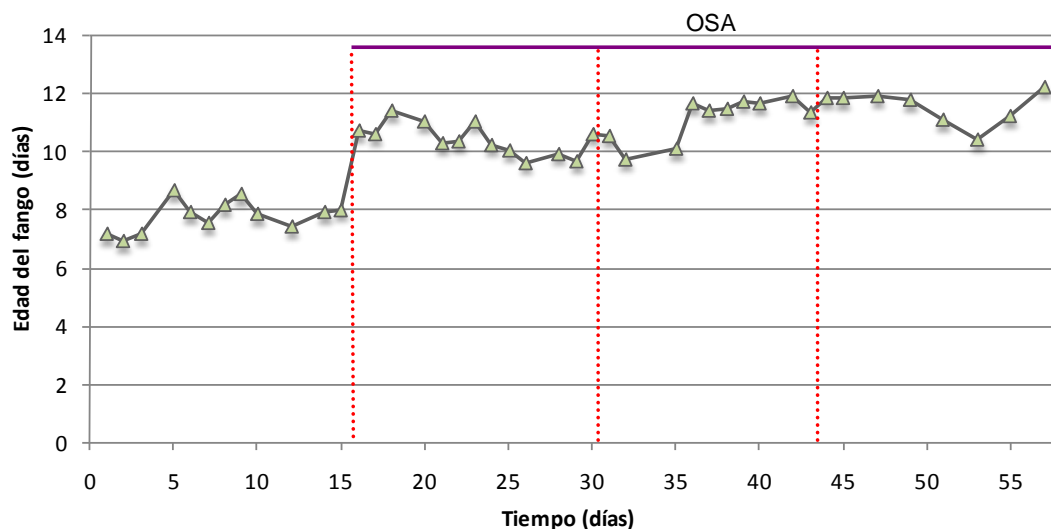
Tabla IV.26. Estimación de la cantidad de fangos en el sistema en cada una de las etapas

Etapas	STS_{cuba} aireación (g/l)	Fangos_{cuba} aireación (g) (STS_{ca} x 3,5 l)	STS_{reactor} anóxico (g/l)	Fangos_{reactor} anóxico (g) (STS_r x 2,4 l)	Fangos purgados (g)	Fangos total sistema
1	2,14 ± 0,29	7,48	—	—	12,16	19,64
2	1,71 ± 0,36	6,00	3,09 ± 0,54	7,42	7,47	20,88
3	1,78 ± 0,12	6,24	2,04 ± 0,23	4,89	5,62	16,75
4	1,73 ± 0,09	6,06	2,10 ± 0,54	5,04	4,40	15,50

Respecto a la cantidad total de fangos en el sistema se observa que, a pesar de que en la etapa 1 del ensayo no existe cámara anóxica, la cantidad de fangos en el sistema solamente se vio superada por la registrada en la etapa 2, debido a la cantidad de fangos en el tanque de aireación (7,48 g) pero, principalmente, a la elevada cantidad de fangos purgados del sistema. La mayor cantidad de fangos se registró en la etapa 2 del ensayo, descendiendo en las etapas posteriores. En las etapas 2, 3 y 4, la cantidad de fangos en la cuba de aireación apenas sufrió grandes variaciones. Sin embargo, sí se observó un descenso en la cantidad de fangos en la cámara anóxica que, como se comentó anteriormente, estuvo propiciado por una menor concentración de sólidos en suspensión en la línea de recirculación de fangos.

Igualmente, es destacable que la cantidad de fangos purgados del sistema disminuyó a lo largo del ensayo, más significativamente en el paso de la etapa 1 a la 2, aunque no es despreciable el descenso observado entre las etapas 2 y 4. Por tanto, y a tenor de los resultados de este balance, es posible afirmar que el esquema de tratamiento OSA redujo la cantidad de fangos en el sistema en comparación con el esquema de tratamiento convencional de lodos activos.

Para finalizar el estudio de los fangos, en la Figura IV.52 se representa la evolución de la edad del fango a lo largo del periodo de estudio.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

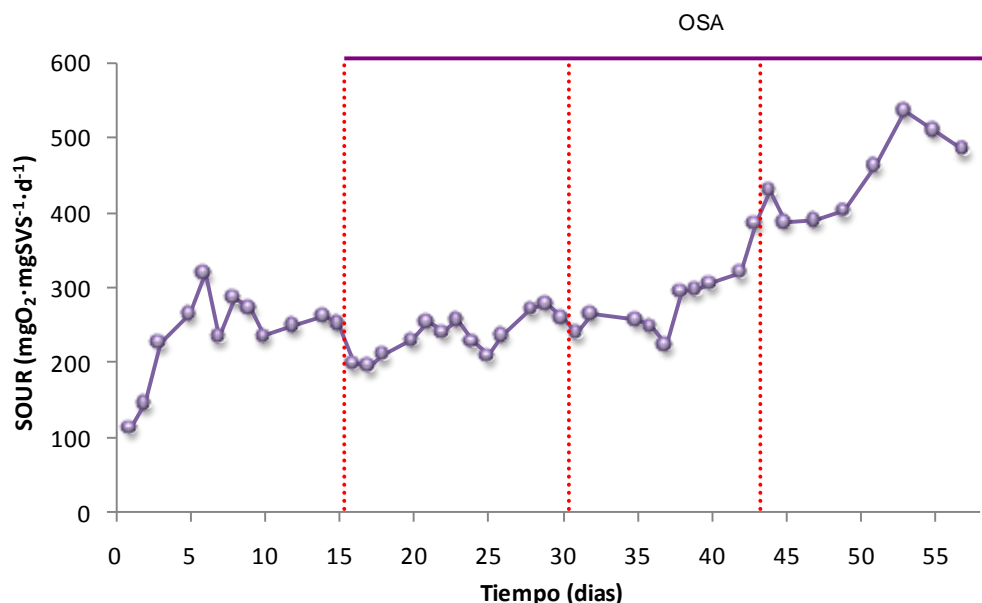
Figura IV.52. Edad del fango en el sistema de lodos activos bajo el proceso OSA

Tal y como se observa Figura IV.52, la edad del fango experimentó un notable incremento en el momento en el que se incorporó en la línea de recirculación de fangos la cámara de anoxia. Este es el comportamiento esperado, ya que al incluir un reactor más en el esquema de tratamiento aumentó el tiempo de permanencia del lodo en el sistema. Asimismo, este aumento estuvo relacionado con la menor cantidad de fangos purgados del sistema en las etapas 2, 3 y 4.

Durante la fase de aclimatación, la edad media del fango fue $7,76 \pm 0,54$ d. En las etapas 2, 3 y 4 la edad media del fango fue $10,43 \pm 0,55$ d, $11,16 \pm 0,76$ d y $11,54 \pm 0,59$ d, respectivamente. El mayor tiempo de residencia de los fangos registrado en las últimas etapas también pudo contribuir a la menor producción de fangos en el sistema.

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$)

En este apartado se analiza el efecto del esquema de tratamiento OSA sobre la actividad respiratoria de los fangos activos. La Figura IV.53 muestra la evolución de la tasa de respiración específica a lo largo del ensayo, diferenciando la etapa previa al esquema OSA y el transcurso del mismo. En ella se observa que, durante los primeros días de la fase de aclimatación, la tasa de respiración del fango activo describió una tendencia ascendente, pasando de los $115 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ del inóculo inicial a los $260 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, valor entorno al cual se estabilizó.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.53. Evolución del SOUR bajo el esquema de tratamiento OSA

Al incorporar la cámara anóxica al esquema de tratamiento, el primer efecto observado fue un leve descenso en la tasa de respiración, aunque posteriormente la actividad respiratoria se recuperó estabilizándose entorno a los mismos valores registrados en la etapa 1. De hecho, los valores promedios obtenidos en las etapas 1 y 2 fueron $238,76 \pm 57,41 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ y $236,47 \pm 27,33 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectivamente. A tenor de estos resultados se puede concluir que la inclusión de la cámara anóxica en la línea de recirculación no produjo un descenso en la actividad respiratoria de los fangos de la cuba de aireación. Este hecho corroboró que las condiciones que se dieron en la cámara de retención fueron de anoxia y no de anaerobiosis ya que el desarrollo de bacterias anaerobias necesariamente hubiera supuesto un descenso de la tasa de respiración del fango.

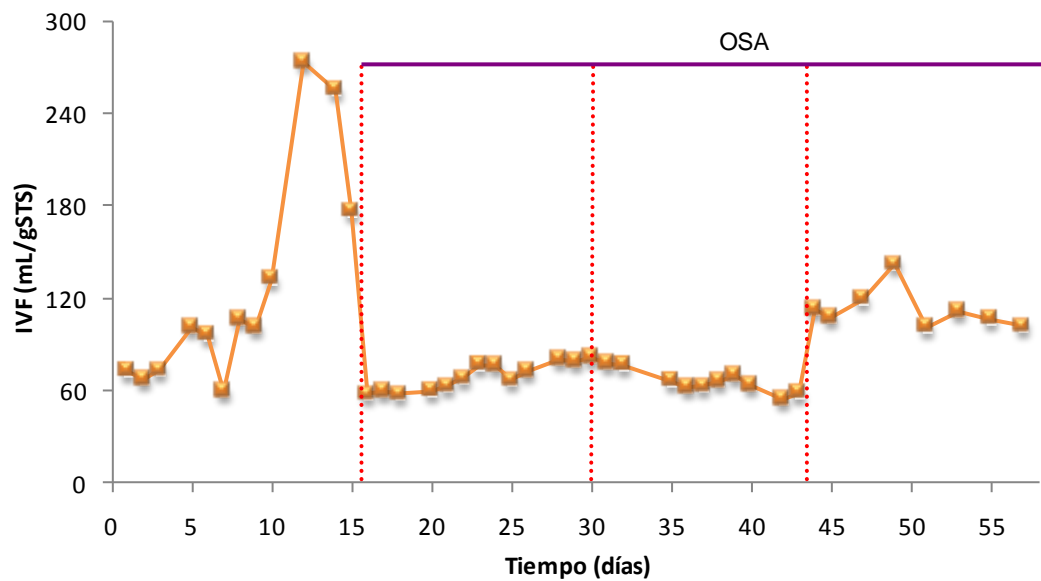
Al disminuir el tiempo de residencia hidráulico en el reactor anóxico (etapa 3), la tasa de respiración se incrementó como respuesta al menor tiempo al que los microorganismos fueron sometidos a condiciones de ausencia de oxígeno. El SOUR medio obtenido para esta fase fue $284,07 \pm 47,90 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, lo que supuso un incremento del 20% aproximadamente con respecto a las fases anteriores.

Durante la etapa 4 del ensayo, que se caracterizó por un menor tiempo de residencia hidráulico en el tanque de aireación y un mayor caudal de alimentación, la tasa específica de respiración sufrió un importante incremento alcanzando valores máximos de hasta $535 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. El promedio de esta etapa se estableció en $450,72 \pm 56,70 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. El ascenso de la actividad respiratoria se debió a un incremento real de la tasa de consumo de oxígeno ya que la biomasa del tanque de aireación se mantuvo prácticamente constante durante las etapas 2, 3 y

4, tal y como se ha comentado en el apartado anterior, y la carga orgánica aplicada al sistema fue constante. El incremento observado del SOUR fue consecuencia de la mayor carga orgánica aportada al sistema, aunque también puede asociarse a la disociación de las rutas metabólicas (Mayhew M. y Stephenson T., 1998).

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

La Figura IV.54 muestra la evolución del índice volumétrico de fangos a lo largo del ensayo.



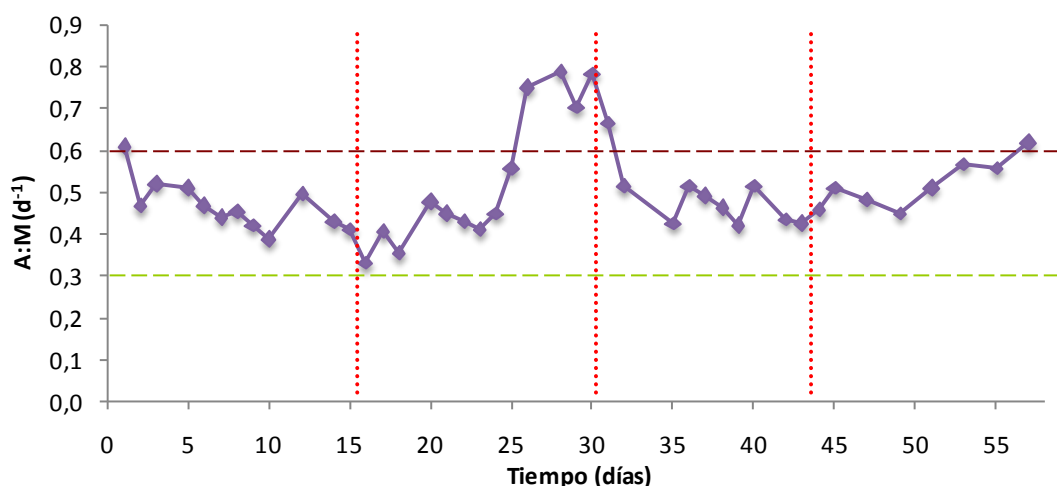
Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.54. Evolución del IVF bajo el esquema de tratamiento OSA

Al inicio del estudio, el índice volumétrico de fangos se mantuvo por debajo de los 120 ml/gSTS indicando una buena capacidad de sedimentación de los fangos. No obstante, el sobrenadante presentó una elevada turbidez propiciada por la presencia de microflóculos en forma de punta de alfiler (*pin-floc*). El día 11 de ensayo se produjo un repentino aumento del IVF que, como será comentado en un apartado posterior, estuvo motivado por el desarrollo incontrolado de las bacterias filamentosas presentes en el inóculo inicial. Este fenómeno de *bulking* filamentoso apenas se extendió un par de días, de forma que el día 15 dio comienzo la fase de operación bajo el esquema de tratamiento OSA.

La incorporación de la cámara anóxica a la línea de recirculación de fangos no produjo una pérdida de la sedimentabilidad de los fangos sino que potenció esta propiedad, como ya habían comprobado otros autores en estudios anteriores (Saby *et al.*, 2003). Durante las etapas 2 y 3 del ensayo, los valores de IVF se situaron por debajo del valor de referencia (120 ml/gSTS). Tan sólo al incrementar el caudal de alimentación del sistema, o en otras palabras, al disminuir el tiempo de residencia hidráulico en el tanque de aireación, los valores del IVF se acercaron al valor de referencia rebasándose puntualmente dicho límite. Este comportamiento había sido ya descrito en ensayos anteriores, quedando comprobado que el sistema se desestabiliza en el momento que las condiciones de operación se aproximan a las convencionales (THR 4-5 h aproximadamente). A pesar de ello, se observó una buena separación del agua clarificada de los fangos, siendo mínimo el riesgo de escape de flóculos a través del efluente.

En cuanto a la relación A:M, la siguiente figura muestra la evolución observado a lo largo de los 57 días en que transcurrió el ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

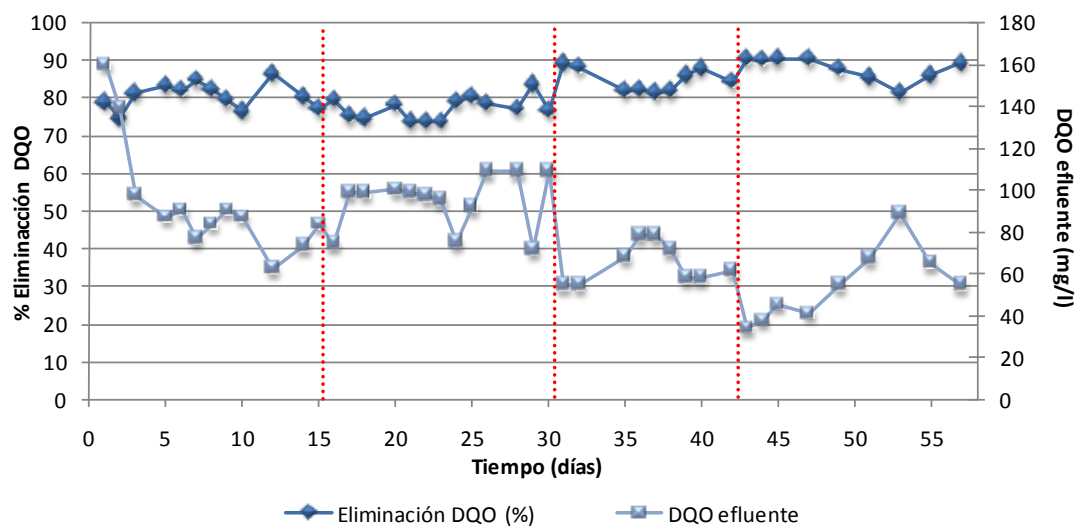
Figura IV.55. Evolución de la relación A:M bajo el esquema de tratamiento OSA

En líneas generales, esta relación se mantuvo en el rango 0,3-0,6 d⁻¹ durante todo el ensayo, aunque con un elevado grado de irregularidad. Durante la etapa 2 de ensayo, correspondiente a un THR en el tanque de aireación de 11 horas, la relación A:M superó la barrera de los 0,6 d⁻¹, como consecuencia de la baja concentración de biomasa registrada durante esta etapa, que ya ha sido comentada en un apartado anterior (ver Figura IV.49). A pesar de ello, la decantabilidad del fango no se vio afectada por esta alteración, registrándose valores del IVF en torno a 80 ml/gSTS durante los días 25-30 de ensayo. Al aumentar el caudal de recirculación y recuperarse la concentración de biomasa en el tanque de aireación (etapa 3), la relación A:M volvió al rango óptimo.

En los últimos días de ensayo, la relación A:M describió una tendencia ascendente acercándose nuevamente al valor máximo del rango de referencia, por lo que un leve incremento de la carga orgánica aplicada podría conducir a que la relación A:M superara dicho valor y el sistema podría volverse inestable.

Rendimiento de la depuración

Una vez comprobado el efecto del nuevo esquema propuesto sobre la actividad respiratoria, es necesario evaluar su efecto sobre el rendimiento global del proceso. La Figura IV.56 muestra los valores de DQO el efluente y el rendimiento del sistema a lo largo del ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.56. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente bajo el esquema de tratamiento OSA

Durante los 57 días de ensayo, los valores obtenidos de la DQO de salida del sistema de lodos activos, tanto bajo el esquema convencional como el modificado, se mantuvieron por debajo del límite establecido por la Directiva 91/271/CEE (125 mgDQO/l). Los mejores resultados se obtuvieron a partir del día 30 de ensayo, coincidiendo con el inicio de la tercera etapa (aumento del caudal de recirculación y disminución del tiempo hidráulico de residencia en el reactor anóxico). Durante las etapas 3 y 4, el valor promedio de la DQO del efluente fue $61,45 \pm 13,24$ mg/l y $56,50 \pm 16,69$ mg/l, respectivamente. Como ha sido comentado en apartados anteriores, durante estas etapas también se produjo un importante incremento en la actividad respiratoria de los fangos (Figura IV.53).

Respecto a los rendimientos medios del sistema, durante todo el ensayo fue del 82% aproximadamente, por tanto, superior al establecido por la legislación vigente en materia de depuración de aguas residuales urbanas. Los rendimientos medios de cada una de las etapas en las que se dividió el ensayo fueron: 80% para la primera, 77% en la segunda, 85% en la tercera y, por último, 87% en la cuarta. Tal y como se observa en la figura anterior, los menores rendimientos se obtuvieron para los días posteriores a la colocación del reactor anóxico en la línea de recirculación, pudiendo ser consecuencia del ajuste del sistema a las nuevas condiciones de funcionamiento del sistema. De hecho, al final de la segunda etapa, la eficacia de depuración aumentó hasta los niveles obtenidos en la fase de aclimatación e incluso puntualmente rebasaron la media del ensayo. Al disminuir el tiempo de residencia de los fangos en la cámara anóxica, los porcentajes de reducción de DQO aumentaron considerablemente, superando durante las etapas 3 y 4 la media del ensayo y alcanzándose puntualmente valores de hasta el 90%.

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

El inóculo inicial se caracterizó por la presencia de una importante población de *Euplotes*., aunque también se observan algunos protozoos ciliados sésiles (*Vorticellas* sp.). Los flóculos presentaban un tamaño pequeño-medio, de hecho, en el sobrenadante del sistema se observó una importante pérdida de estos flóculos dando lugar al denominado fenómeno de *pin-floc*. No obstante, a los pocos días de dar comienzo el ensayo, los flóculos adquirieron un tamaño mayor y el fenómeno de *pin-floc* desapareció, ganando el efluente final una mayor transparencia. Las bacterias filamentosas al inicio del ensayo se presentaban poco desarrolladas. Sin embargo, a medida que avanzó el periodo de aclimatación, los organismos filamentosos se hicieron mayoritarios desarrollándose, en torno al día 11 de ensayo, un fenómeno *bulking* intenso pero breve ya que apenas se prolongó durante 3 días.

Al implantar la cámara anóxica en la línea de recirculación de fangos, correspondiente a la etapa 2 caracterizada por un $\text{THR}_{\text{aireación}} = 11 \text{ h}$ y $\text{THR}_{\text{anóxico}} = 9 \text{ h}$, se observó inicialmente una pérdida de la diversidad microbiana en el fango activo. Tan sólo se encontraron algunos *Litonotus* y amebas suctorias. A medida que transcurrió esta primera fase, comenzaron a aparecer algunos *Euplotes*, así como protozoos ciliados sésiles (*Vorticellas*) y algunos *Litonotus*.

Durante la tercera etapa ($\text{THR}_{\text{aireación}} = 11 \text{ h}$ $\text{THR}_{\text{anóxico}} = 6 \text{ h}$) fue destacable la aparición de organismos uniflagelados libres nadadores de tamaño medio-pequeño, típicos de fangos inmaduros. Sin embargo, y como lo demuestran los valores de los parámetros físico-químicos comentados en los apartados anteriores, el sistema gozó en esta tercera fase del estudio de una cierta estabilidad. Tampoco varió la carga orgánica aplicada al sistema que se mantuvo constante con respecto a la etapa 2.

Al finalizar esta etapa, se detectaron algunos rotíferos reptantes y nematodos, así como *Euplotes*, *Litonotus* y *Apidiscas*. Igualmente, se observaron algunas *Vorticellas* y colonias de *Epystilis*. El

grado de diversidad microbiana fue la máxima registrada en el presente ensayo. La presencia de estos organismos en el fango activo se tradujo en una mayor tasa de respiración (ver Figura IV.53) y una mayor calidad del efluente final del sistema.

Al aumentar el caudal de alimentación del sistema ($THR_{\text{aireación}} = 7 \text{ h}$ $THR_{\text{anóxico}} = 6 \text{ h}$), apenas se registraron cambios en la comunidad microbiana (*rotíferos*, *aspidiscas*, *lironotus*, *euplotes*). Lo más destacable de esta última etapa fue el crecimiento preocupante de las bacterias filamentosas en torno al día 50 de ensayo, que se tradujo en un mayor IVF aunque no desarrolló el fenómeno de *bulking* (ver Figura IV.54).

El recuento de células totales y activas reportó los siguientes resultados:

Tabla IV.27. Recuento de células totales y activas en el ensayo del proceso OSA

Etapa	Día de ensayo	Células totales-DAPI (x 10 ⁹ cel./ml)	Células activas-CTC (x 10 ⁹ cel./ml)	% Cél. Activas
Etapa 1	3	47,5	7,5	16
	8	37,2	7,0	19
	14	36,6	7,2	20
Etapa 2	18	36,0	8,2	23
	24	22,5	6,2	28
	30	16,0	4,8	30
Etapa 3	36	18,0	6,2	34
	43	16,4	5,8	35
Etapa 4	49	28,9	12,0	42
	56	25,4	10,0	40

Respecto al porcentaje de células activas se observó que, durante la fase de aclimatación de los fangos, se mantuvo en torno al 18-19%, valores similares a los observados en otros ensayos de este estudio. Al igual que la concentración de sólidos en suspensión (ver Figura IV.49), la cantidad de células por mililitro disminuyó conforme avanzó el periodo de aclimatación. Este descenso fue más acusado en el número de células totales, mientras el número de células teñidas con el CTC apenas sufrió grandes cambios.

En el momento en que se insertó la cámara anóxica en la línea de recirculación, se produjo un incremento de la proporción de células activas presentes en el tanque de aireación, hasta alcanzar porcentajes no observados en ensayos anteriores, pasándose de un 23% al inicio de la etapa 2 a un 30% el día 30 de ensayo. En la etapa 3, el porcentaje de células activas siguió aumentando hasta el 35% y en la etapa final, este porcentaje alcanzó el 42%. Al analizar los datos se observa que este incremento estuvo motivado por un descenso del número de células totales en el sistema y el mantenimiento del número de células activas a lo largo de todo el ensayo. No obstante, en la etapa 4, aumentó tanto el número de células totales como las activas. Este incremento pudo deberse al aumento de la carga orgánica aportada al sistema.

El mayor porcentaje de células activas en el fango quedó reflejado, asimismo, en la actividad respiratoria medida a través del SOUR (Figura IV.53) para el que se observó un incremento en las últimas etapas del experimento.

La evolución observada en el porcentaje de células activas permite concluir que tras el paso de los fangos por la cámara anóxica y reinstaurarse nuevamente las condiciones aerobias, se favorecieron las rutas respiratorias dentro del metabolismo celular. La alternancia de estos dos ambientes distintos, produjo una excitación de los microorganismos presentes en el sistema cuyo resultado final fue el desacoplamiento del catabolismo y el anabolismo, lo que pone de manifiesto la capacidad del esquema de tratamiento OSA para reducir la cantidad de lodos generados en el sistema y limitar el crecimiento bacteriano.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

En este experimento se realizaron tres ensayos discontinuos para determinar la tasa de crecimiento del fango activo y analizar el efecto de la cámara anóxica sobre dicho parámetro. El primero se realizó al finalizar la etapa 2 y se considera representativo de las condiciones de operación definidas por un $THR_{aireación}$ de 11 h y un $THR_{anóxico}$ de 9 horas. El segundo se desarrolló al concluir la etapa 3, caracterizada por un $THR_{aireación}$ de 11 horas, al igual que en la etapa anterior, y un $THR_{anóxico}$ de 6 horas. La metodología seguida para esta determinación queda detallada en el capítulo III de la presente memoria. La Tabla IV.28 muestra los resultados obtenidos en ambos tests. En ella se observa que las Y_{obs} en las etapas 2 y 3 fueron idénticas e igual a 0,32 mgSVS/mgDQO. A tenor de estos resultados, es posible afirmar que el tiempo al que los fangos fueron sometidos a condiciones de anoxia no fue determinante en la tasa de crecimiento del fango activo, al menos en el rango estudiado en este ensayo. Este aspecto es de suma importancia en el dimensionamiento de la unidad, pues no es lo mismo diseñar una cámara de anoxia para un tiempo de residencia de 9 o 6 horas (se requiere un mayor volumen en el primero de los casos ante un mismo caudal circundante).

Tabla IV.28. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada bajo el esquema de tratamiento OSA durante las etapas 2 y 3

Tiempo (h)	SVS(mg/l)		DQO (mgO ₂ /l)		Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)	
	<u>Etapla 2</u>	<u>Etapla 3</u>	<u>Etapla 2</u>	<u>Etapla 3</u>	<u>Etapla 2</u>	<u>Etapla 3</u>
0	1.440	1.240	1092,08	1086,46	-	-
2	1.570	1.350	794,09	797,87	-	-
5	1.670	1.440	554,17	594,16	-	-
24	1.730	1.540	175,68	135,81	0,32	0,32

En lo que respecta al valor de la Y_{obs}, si lo comparamos con el obtenido en el ensayo de la influencia del tiempo de residencia en la producción de fangos (capítulo IV.2), y cuyos resultados quedan reflejados en la Tabla IV.8 (Y_{obs} = 0,43 mgSVS/mgDQO para THR=11 h), la reducción producida por la incorporación del tanque anóxico en la línea de recirculación fue del 26%. Este porcentaje es elevado pero no alcanza el 40-50% de reducción descrito por otros autores (Chudoba P *et al.*, 1992a, Chudoba *et al.*, 1992b), aunque sí es del mismo orden que la obtenida por Saby *et al.* (2003) para un potencial redox de +100 mV.

Al finalizar la etapa caracterizada por un THR_{aireación} = 7 h se realizó un nuevo ensayo en discontinuo, para lo cual se emplearon 1,5 l del fango existente en el tanque de aireación. Los resultados obtenidos quedan recogidos en la Tabla IV.29.

Tabla IV.29. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada bajo el esquema de tratamiento OSA (etapa 4: THR_{aireación} =7h; THR_{anóxica} =6h).

Tiempo (h)	SVS(mg/l)	DQO (mgO ₂ /l)	Y _{obs} (mgSVS/mg DQO)
0	1.440	892,08	-
2	1.600	794,09	-
5	1.670	554,17	-
24	1.730	148,68	0,39

En este caso, la tasa de crecimiento obtenida fue superior a la observada en las etapas 2 y 3 de ensayo. El incremento en la concentración de sólidos en el reactor fue 290 mgSVS/l, menor a la obtenida con fangos de la etapa 3 (300 mg/l). Sin embargo el consumo neto de materia orgánica fue 743,40 mgDQO/l, menor al observado anteriormente, resultando una mayor tasa de conversión en biomasa. Como se comentó en el capítulo IV.2, a mayor carga orgánica aplicada al sistema (menor THR) mayor es la tasa de crecimiento del fango activo, corroborándose este hecho en este ensayo. Si se toma como referencia el Y_{obs} determinado en el ensayo de tiempos de residencia (0,47 mgSVS/mgDQO, ver Tabla IV.8) el esquema OSA permitió reducir el crecimiento bacteriano en un 17%.

IV.4.4. Conclusiones

De los resultados del seguimiento y control de la unidad de lodos activos bajo el esquema OSA se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- La inclusión de una cámara anóxica en la línea de recirculación de fangos permitió reducir hasta en un 60% la producción de estos subproductos. Esta reducción estuvo determinada por una menor tasa de crecimiento de los microorganismos presentes en el fango activo, que a su vez propició que, en general, la cantidad total de fangos en el sistema disminuyera con respecto al esquema convencional.
- El tiempo de retención de los fangos en el tanque anóxico no tuvo un efecto determinante en el crecimiento microbiano, de tal manera que un $THR_{anóxico}$ de 6-9 horas permitió reducir la Y_{obs} en un 25% aproximadamente. Asimismo, se comprobó que al disminuir el tiempo hidráulico en el tanque de aireación la Y_{obs} aumentó, tal y como se comprobó en el ensayo de tiempos de retención (capítulo IV.2).
- La actividad respiratoria de los fangos aumentó bajo el esquema OSA, alcanzándose tasas de respiración muy elevadas. A nivel microscópico, esta activación también fue identificada mediante el incremento del porcentaje de células teñidas con CTC. Asimismo, se comprobó que al disminuir el tiempo de residencia de los fangos en el reactor anóxico, aumentó la proporción de células con respiración aerobia. Por otro lado, al aumentar el caudal de alimentación, y por tanto, la carga orgánica aplicada al sistema, también se produjo una activación de los microorganismos presentes en el sistema.
- El tanque de retención presentó condiciones de anoxia y no de anaerobiosis debido, principalmente, al bajo tiempo de residencia de los fangos en dicha cámara. Estas condiciones se identificaron a través de los incrementos del SOUR y el porcentaje de células activas observadas una vez se incluyó el tanque de retención en la línea de recirculación de los fangos. Asimismo, no se observó cambios en la composición de la

comunidad microbiana apareciendo las mismas poblaciones que en un fango activo convencional y no detectándose poblaciones características de medios anaerobios.

- El rendimiento del sistema se mantuvo por encima del 80% en todo el ensayo, alcanzándose el 90% en eliminación de materia orgánica cuando el THR en la cámara anóxica se redujo a 6 horas. Estos elevados porcentajes se debieron al incremento en la actividad del fango propiciada por la alternancia de condiciones aerobias y anóxicas.
- La capacidad de sedimentación de los fangos no se vio alterada por la inclusión de la cámara anóxica en la recirculación de los fangos. Al aumentar el caudal de alimentación, no se produjo el crecimiento masivo de organismos filamentosos observado en anteriores ensayos por lo que es probable que las condiciones de anoxia impuestas a los fangos permitiera el control de estas poblaciones.

IV.5. Reducción de la producción de lodos de depuradora mediante la adición de enzimas extracelulares y otros polímeros extracelulares generados en la digestión aerobia de lodos.

IV.5.1. Introducción

La tercera y última de las estrategias aplicada en el presente trabajo de investigación para la reducción de la producción de fangos, se basa en la solubilización del fango y de la materia orgánica coloidal y particulada, en adelante MOCP, presente en las aguas residuales mediante las enzimas extracelulares resultantes del proceso de digestión aerobia de fangos.

La degradación de los contaminantes orgánicos por parte de los microorganismos presentes en el sistema de fangos activos está sujeta al paso de dichas sustancias a través de la membrana celular. Desde el punto de vista bioquímico, la MOCP presente en las aguas residuales es mucho más difícil de degradar que la materia orgánica soluble. Mientras que la materia orgánica soluble es degradada directamente por los microorganismos presentes en el reactor, la MOCP no puede ser consumida directamente y es separada del agua clarificada en el decantador junto a los fangos en exceso. Esto se debe a un simple impedimento físico: las bacterias presentan una membrana semipermeable que permite únicamente el paso efectivo de las pequeñas partículas solubles. Sólo las sustancias monoméricas y oligoméricas, con un peso molecular inferior a 1.000 Da, son capaces de atravesar las membranas celulares mediante procesos de transporte activo (Cadoret A. *et al.*, 2002). Por su parte, las sustancias poliméricas (proteínas, lípidos y carbohidratos) de cadena larga deben ser degradadas previamente en el exterior de las células hasta intermediarios de menor peso molecular mediante la acción de hidrolasas extracelulares (Nybroe O. *et al.*, 1992). Una vez hidrolizados, los compuestos de peso molecular medio pueden penetrar al interior de las células y ser empleados como fuente de carbono y energía. La depolimerización (hidrólisis) de las sustancias de alto peso molecular constituye, por tanto, la etapa limitante en el proceso de mineralización de la materia orgánica en los procesos de fangos activos y los sistemas de tratamiento anaerobios (Frølund B. *et al.*, 1995; Gessesse A. *et al.*, 2003; Higuchi Y. *et al.*, 2005; Whiteley C. *et al.*, 2002).

Para evitar la acumulación de materia orgánica refractaria o no metabolizada en los fangos residuales es necesario producir la solubilización de dichos compuestos orgánicos. El proceso de solubilización consiste en la conversión de la MOCP en compuestos de menor peso molecular que pueden atravesar la membrana celular y así ser empleados como alimento (oxidados hasta CO₂ y agua). Mediante la solubilización de esta materia orgánica refractaria todos los compuestos orgánicos influentes son metabolizados para la obtención de energía y el crecimiento celular, reduciéndose la cantidad de materia orgánica no degradada en el fango residual.

Dicha solubilización tiene lugar en el exterior de las células y en ella participan enzimas extracelulares, principalmente enzimas hidrolíticas solubles. En la Tabla IV.30 se presenta las exoenzimas comúnmente encontradas en los sistemas biológicos de depuración tanto aerobios como anaerobios.

Tabla IV.30. Hidrolasas de “clase 3” en los sistemas biológicos de depuración (Burgess J.E. y Pletschke B.I, 2008).

Número EC*	Nombre Común		Tipo de fango	Referencia
3.1.1	Lipasas	Lipasas Lipasas Lipasas Lipasas Lipasas	Anaerobio-aerobio Anaerobio Anaerobio Activo Anaerobio (lácteo)	Goel <i>et al.</i> (1998a) Whiteley <i>et al.</i> (2003a) Whiteley <i>et al.</i> (2003b) Gessesse <i>et al.</i> (2003) Leal <i>et al.</i> (2006)
3.1.3	Fosfatasas	Fosfatasa ácida Fosfatasa	Anaerobio-aerobio Anaerobio	Goel <i>et al.</i> (1998b) Whiteley <i>et al.</i> (2002a)
3.2.1	Glucosidasas	α -glucosidasa α -glucosidasa α -glucosidasa α -amilasa α -amilasa β -glucosidasas β -glucosidasas Amilasas y α -glucosidasa	Anaerobio-aerobio Activo Activo Activo Digerido anaeróbicamente Anaerobio Anaerobio Aerobio, anaerobio y anóxico	Goel <i>et al.</i> (1998b) Nybroe <i>et al.</i> (1992) Cadoret <i>et al.</i> (2002) Cadoret <i>et al.</i> (2002) Higuchi <i>et al.</i> (2005) Guellil <i>et al.</i> (2001) Whiteley <i>et al.</i> (2003b) Whiteley <i>et al.</i> (2002b) Goel <i>et al.</i> (1998a)
3.4	Proteasas	Proteasa Proteasa Proteasa Proteasa Proteasa L-Leucina-aminopeptidasa proteasa alanina-aminopeptidasa	Anaerobio-aerobio Anaerobio-aerobio anóxico Activo Activo Anaerobio Activo Activo Anaerobio Activo	Goel <i>et al.</i> (1998b) Goel <i>et al.</i> (1998a) Cadoret <i>et al.</i> (2002) Guellil <i>et al.</i> (2001) Whiteley <i>et al.</i> (2002a) Cadoret <i>et al.</i> (2002) Gessesse <i>et al.</i> (2003) Watson <i>et al.</i> (2004) Nybroe <i>et al.</i> (1992)

* Número de la Comisión de enzimas

Las exoenzimas pueden estar asociadas a la membrana celular (ectoenzimas), pueden presentarse de forma libre en el medio (exoenzimas propiamente dicho) o estar absorbidas junto a otras sustancias exopoliméricas en la matriz del fango (Cadoret A. *et al.*, 2002; Frølund B. *et al.*, 1995; Vavilin V.A. *et al.*, 1996). No obstante, la mayor parte de las enzimas hidrolíticas se encuentran asociadas a las células o los flóculos (inmersos en la matriz de sustancias exopoliméricas), y en una pequeña cantidad de forma libre en el licor mezcla (Frølund B. *et al.*, 1995; Goel R. *et al.*, 1998b).

Las exoenzimas presentes en los sistemas de depuración (lipasas, glucosidasas, proteasas, etc.) (Frølund B. *et al.*, 1995; Nybroe O. *et al.*, 1992) pueden ser aportadas por la propia corriente de agua residual influente, o ser liberadas al medio activamente por parte de las células vivas o, finalmente, ser vertidas como consecuencia de la lisis celular. La producción de estas enzimas no es continua ya que se generan sólo bajo determinadas condiciones, por ejemplo, cuando las células son sometidas a condiciones de inanición. Estas condiciones son las que se dan en un proceso de digestión aerobia de fangos, donde la liberación de enzimas extracelulares tiene lugar tanto por la excreción activa de estos compuestos por parte de las células vivas como por el proceso de lisis celular generalizado en el reactor. El aporte de estas hidrolasas y otros exopolímeros al sistema de lodos activos podría facilitar la degradación de la materia orgánica, principalmente la particulada y coloidal, y producir un fenómeno de solubilización y autodigestión de los fangos, con la consecuente reducción en la producción de fangos. Esta hipótesis es la que se plantea en este ensayo.

246

La solubilización de los fangos también se puede conseguir mediante la aplicación de ozono (Saktaywin W. *et al.*, 2005; Dytczak M.A. *et al.*, 2007), el empleo de ultrasonidos (Tiehm A. *et al.*, 2001; Chu C.P. *et al.*, 2001), reacciones foto-Fenton (Tokumura M. *et al.*, 2008), cloración (Saby S. *et al.*, 2002), el tratamiento térmico (Kepp U. *Et al.*, 1999, Barjenbruch M. *et al.*, 1999) o el tratamiento ácido / alcalino (Tanaka *et al.*, 1997; Rocher M. *et al.*, 1999, 2001). En este estudio, se optó por la propia autosolubilización a través de las enzimas hidrolíticas generadas como consecuencia de la digestión aerobia de fangos.

IV.5.2. Material y métodos

Para comprobar la hipótesis planteada se ideó un esquema que combinaba el sistema convencional de lodos activos y el digestor aerobio de fangos, y cuya representación esquemática se recoge en la Figura IV.57.

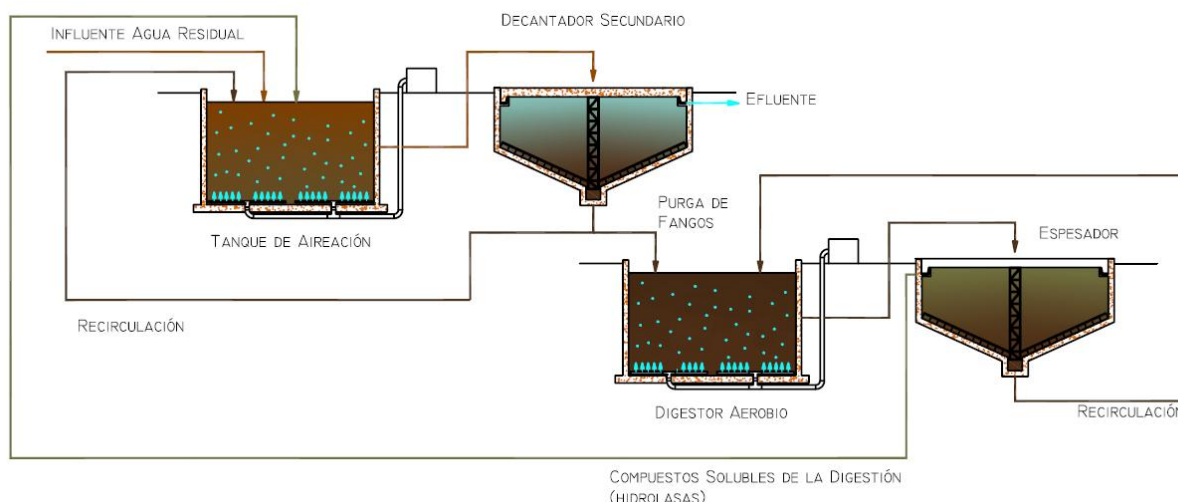


Figura IV.57. Esquema de la combinación del sistema de lodos activos y digestor aerobio de fangos

Como digestor aerobio se empleó una de las plantas de lodos activos de vidrio disponibles en el laboratorio. Al inicio del ensayo, este reactor fue inoculado con fangos procedentes de la cuba de aireación de la EDAR “El Trocadero”, que fueron espesados por gravedad en el laboratorio previa a su adición al tanque de digestión para alcanzar una elevada concentración de fangos, típica de estas unidades de tratamiento.

247

Los fangos en exceso generados en el sistema de lodos activos convencional purgados diariamente del mismo, fueron introducidos manualmente en el digestor aerobio de fangos. Para ello se empleaba una jeringuilla de 100 ml de capacidad que se conectaba a la tubería de recirculación de fangos y permitía la extracción de un volumen (60-100 ml) de fangos que, posteriormente, eran introducidos en el digestor. También se introdujeron los 135 ml de fango procedente de la cuba de aireación empleados en la determinación del SOUR (ver “seguimiento del sistema” del capítulo II).

El digestor se dotó de un sistema de aireación por difusores de burbuja fina que aportó el oxígeno necesario para el proceso de estabilización y que homogeneizó el contenido del reactor. Asimismo, se dispuso de un sistema *air-lift* para la recirculación de los fangos que se acumulaban en el decantador secundario del digestor aerobio, que en este caso operó como espesador de fangos. En este espesador se consiguió separar el sobrenadante del fango estabilizado, que fue recirculado nuevamente a la unidad de digestión. Del digestor aerobio no se purgaron lodos garantizando de esta forma una elevada edad del fango y, consecuentemente, un avanzado grado de estabilización.

El licor mezcla obtenido en la digestión aerobia de los fangos y separado en el clarificador secundario fue bombeado al tanque de aireación del sistema de lodos activos. El volumen diario bombeado fue 250 ml.

La siguiente figura muestra una fotografía del esquema de tratamiento implantado en el laboratorio.



Figura IV.58. Fotografía de la combinación del sistema de lodos activos (unidad que aparece a la derecha de la foto) y el digestor aerobio de fangos (unidad a la izquierda)

La conexión de ambas unidades de tratamiento tuvo lugar el día 15 de ensayo, una vez que los microorganismos del sistema de lodos activos se habían aclimatado a las condiciones de laboratorio y a la alimentación sintética.

Si bien el digestor de fangos operó de forma invariable en el tiempo, el sistema de lodos activos convencional trabajó bajo distintos tiempos de residencia, al igual que en los ensayos anteriores. La tabla IV.31 muestra las distintas etapas en las que se dividió el ensayo y los parámetros de operación que las caracterizaron.

Tabla IV.31. Etapas de trabajo y condiciones de operación bajo la combinación lodos activos-digestor aerobio

	Etapas	Periodo (días)	Q alimentación (l/h)	THR_{cuba} aireación (h)	Q recirculación (l/h)
Sin digestor aerobio asociado	1	1-14	0,3	11	0,43
Con digestor aerobio asociado	2	15-30	0,3	11	0,43
	3	31-46	0,5	7	0,66

En todas las etapas la relación Q_r/Q_a fue mayor a la unidad (1,43 en las etapas 1 y 2 y 1,32 en la etapa 3).

A lo largo del ensayo, se procedió a la caracterización enzimática del sobrenadante obtenido en el espesador del digestor aerobio para lo cual se determinó la actividad proteasa y la actividad esterasa, así como el contenido en polisacáridos y proteínas constituyentes de la matriz de exopolímeros. La muestra no fue sometida a ningún pretratamiento. Se hicieron un total de 3 determinaciones: al comenzar la adición del sobrenadante al sistema de lodos activos (día 15 de ensayo), al modificar el tiempo hidráulico de residencia en la cuba de aireación (día 31) y al finalizar el ensayo (día 46). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Los métodos empleados para la determinación de estos parámetros se exponen a continuación.

249

Determinación de la Actividad Proteasa

La actividad proteasa se determinó según el método de desarrollado por Kim Y-K. *et al.* (2002) utilizando una solución de Azocaseína al 0,5% en tampón Tris-HCl 20 mM a pH 8.

Al sustrato (azocaseína) se le adicionó la enzima (muestra del sobrenadante) y se incubó durante una hora a 30° C, adicionándole después ácido tricloroacético al 15 % para cortar la reacción.

Después de 30 minutos de reposo a temperatura ambiente, la reacción mixta se centrifugó a 14.000 rpm. El sobrenadante se mezcló con NaOH 2M y la absorbancia del compuesto coloreado resultante se midió a 440 nm frente a un blanco establecido.

La actividad de proteasa se expresó como el número de unidades de proteasa por mg de proteína (una unidad de proteasa se definió como la cantidad de la enzima requerida para incrementar por minuto 0,01 unidades de absorbancia a 440 nm).

Determinación de la Actividad Esterasa

La actividad esterasa se midió como la hidrólisis de fluoresceín diacetato de acuerdo con Fontvieille *et al.* (1992). El método se basa en la capacidad de varias enzimas producidas por bacterias u hongos de dividir la molécula de FDA, produciendo fluoresceína, que se puede medir por espectrofotometría o fluorometría.

La determinación de la actividad esterasa se realizó sobre muestras del sobrenadante tomadas del espesador secundario. El reactivo utilizado, Diacetato de Fluoresceína (FLUKA), se disolvió en acetona en una concentración de 2 mg/ml. La conservación de la solución stock se realizó a una temperatura de -20 °C.

La determinación de la actividad esterasa se realizó sobre un volumen final de 5 ml y a una dilución 1:10 de la muestra. Paralelamente, se preparó un blanco con tampón fosfato. A cada dilución se le añadió 100 µl del reactivo FDA. Las muestras se incubaron en oscuridad durante un periodo de 10 minutos, finalizado el cual la reacción fue cortada añadiendo 1 ml de Cloruro de Mercurio a una concentración de 400 ppm. Seguidamente se centrifugó a 3.500 rpm durante 10 minutos, y se midió la absorbancia del sobrenadante a 490 nm en el espectrofotómetro. Este método es una modificación del propuesto por Fontvieille D.A. *et al.* (1992).

La determinación de la actividad esterasa se realizó utilizando la expresión de Fontvieille *et al.* (1992).

$$FDA = \frac{ABS}{81,5} \times \frac{1}{t} \times v \times F \times \frac{1}{C}$$

donde:

FDA: Actividad esterasa en µmoles de FDA hidrolizado/min·gSVS.

ABS: Absorbancia o densidad óptica a 490 nm.

t: Tiempo de incubación.

v: Volumen de HgCl₂.

F: Factor de dilución.

C: concentración de volátiles.

81,5: Coeficiente de extinción del fluoresceín diacetato.

Determinación de Proteínas

La determinación de proteínas se llevó a cabo mediante el Método de Lowry O.H. *et al.* (1951). Se trata de un método colorimétrico de determinación cuantitativa de proteínas. La muestra se añade a un reactivo que forma un compuesto coloreado con las proteínas, dando un color intenso resultante de la proporcional disolución de la concentración de proteínas.

Para determinar la concentración de proteínas del sobrenadante generado en la digestión aerobia de fangos se construyó una curva patrón a partir de una solución de albúmina de suero bovino BSA (2 mg/ml). La concentración de la muestra problema se determinó por interpolación de los valores de absorbancia en la curva patrón.

En tubos de ensayo lisos se adicionó 1 ml de muestra (agua miliQ para el blanco), 0,5 ml de agua miliQ y 0,5 ml de solución analito. A continuación, se adicionó 5 ml de reactivo C preparado a partir 50 ml de un reactivo A (Na_2CO_3 al 2%, NaOH 0,1M), de 0,5 ml de un reactivo B1 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ al 5%) y de 0,5 ml de un reactivo B2 (tartrato sódico potásico al 2%).

Una vez adicionado el reactivo C y homogeneizado el contenido del tubo, la solución se dejó reposar durante 10 minutos en oscuridad. A continuación se añadió reactivo de Folin (diluído $\frac{1}{4}$), se agitó en el vórtex y la mezcla se dejó reposar nuevamente en oscuridad durante 20 minutos. Transcurrido este periodo de incubación, se procedió a medir la absorbancia en el espectrofotómetro a 580 nm.

251

Determinación de Carbohidrato Total

La determinación de carbohidrato total se realizó de acuerdo con el Método de Dubois *et al.* (1956).

El contenido de carbohidrato total en extractos líquidos viene dado como azúcares simples, oligosacáridos, polisacáridos y sus derivados, produciendo un color naranja muy estable cuando reaccionan con fenol en presencia de ácido sulfúrico concentrado. La intensidad del color naranja es, por tanto, proporcional a la suma de carbohidratos presentes.

Se tomó 1 ml de la solución de analito, un blanco y una solución estándar de glucosa (400 $\mu\text{g/ml}$) en tubos de ensayo lisos. Se adicionó 0,5 ml de solución de fenol al 5% y 2,5 ml de ácido sulfúrico concentrado de forma rápida. Se mezcló en un vórtex unos segundos y se dejó reposar durante 10-15 minutos. A continuación se introdujo la mezcla en un baño de agua a 30° C durante 15 minutos y se transfirió a las celdas colorimétricas para leer la absorbancia a 492 nm.

A parte de estas determinaciones analíticas, se midió el contenido en sólidos en suspensión (totales y volátiles) y la DQO del sobrenadante empleando los métodos descritos en el capítulo II de Material y Métodos de la presente memoria.

IV.5.3. Resultados de la caracterización de los productos extracelulares generados en la digestión aerobia de fangos

En la Tabla IV.32 se muestra la composición media del sobrenadante obtenido en la unidad de espesamiento del sistema de digestión aerobia de fangos y que diariamente fue introducido en el tanque de aireación, como ha sido descrito en el apartado anterior. En dicha tabla se observa que la composición media de este licor se mantuvo prácticamente constante a lo largo de todo el ensayo, a pesar de que el tiempo de residencia de los fangos en el digestor aumentó gradualmente al no existir purga en el sistema. Esta tendencia es contraria a los resultados obtenidos por otros autores (Yu G-H. *et al.*, 2007; Novak J.T. *et al.*, 2003) quienes observaron que a medida que aumentaba el tiempo de digestión la actividad enzimática disminuía.

Tabla IV.32. Composición del sobrenadante de la digestión aerobia de lodos

Parámetro	Valor medio
STS (mg/L)	40,32 \pm 5,35
SVS (mg/L)	8,62 \pm 1,45
DQO	50,87 \pm 12,41
Activ.Proteasa(μ mol/min·g SVS)	2,25 \pm 0,85
Activ.Esterasa (μ mol/min·g SVS)	9,7 \pm 0,85
Proteínas (mg/g SVS)	13,52 \pm 1,96
Carbohidrat.total (mg/g SVS)	11,61 \pm 2,37

La actividad enzimática del sobrenadante fue baja en general, si se compara con los valores obtenidos por otros autores. Así, la actividad proteasa fue de 2,25 μ mol/min·g SVS, un valor inferior al obtenido por Yu G-H. *et al.* (2007) para una fango digerido. Lo mismo ocurrió con la actividad esterasa que se mantuvo en torno a 10 μ mol/min·gSVS. No obstante, la determinación de estos parámetros enzimáticos se realizó directamente sobre la muestra de sobrenadante sin someterla a ningún tratamiento dirigido a desprender los EPS de los sólidos en suspensión presentes en el licor (40 mg STS/l). Como se comentó en el apartado IV.5.1 de este capítulo, la mayor parte de las exoenzimas se encuentran asociadas a los agregados y

flóculos, y, en muy pequeña cantidad, en disolución, por lo que la cantidad de enzimas que fueron adicionadas al sistema convencional de lodos activos se presupone mayor a los datos presentados en la tabla anterior.

En cuanto al contenido en exoproteínas, uno de los principales componentes de la matriz de exopolímeros, la concentración en el sobrenadante se mantuvo en torno a 13 mg/gSVS. Este valor es inferior a los 50 mg/gSVS obtenidos por Yu G-H. *et al.* (2007) en el sobrenadante de la digestión de fangos. Por el contrario, la concentración de exopolisacáridos sí fue del orden de la obtenida por los autores anteriormente mencionados.

La concentración de sólidos en suspensión fue de 40 mgSTS/l, a pesar de que el sobrenadante se tomó del espesador colocado tras la unidad de digestión. El porcentaje de materia volátil fue del 21%. Este bajo porcentaje reflejó el alto grado de mineralización alcanzado durante la digestión aerobia de los fangos. Estos sólidos fueron adicionados, junto con los EPS, en el tanque de aireación del sistema convencional de lodos activos, constituyendo parte de la materia orgánica particulada aportada al sistema.

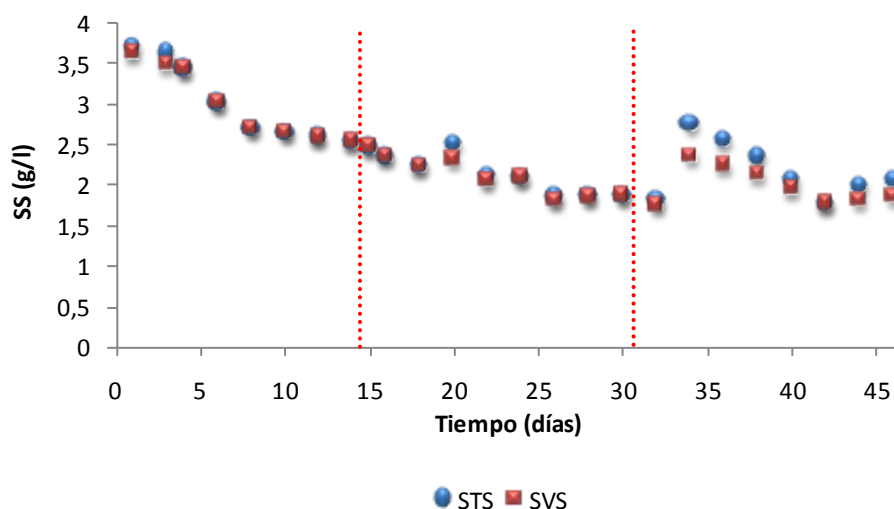
Finalmente, la concentración de materia orgánica, medida como DQO, en el sobrenadante fue de 50 mg/l aproximadamente. Como 250 ml del sobrenadante se traspasaban diariamente al tanque de aireación del sistema de lodos activos, supuso una carga adicional de $4 \cdot 10^{-3}$ kgDQO \cdot m⁻³ \cdot d⁻¹, una cantidad despreciable frente a la carga orgánica aplicada sobre el sistema de lodos activos. Debido al bajo porcentaje de materia volátil en suspensión obtenido en el sobrenadante y a los altos tiempos de digestión a los que fue sometido el fango, se supone que esta materia orgánica extra constituye la fracción mineral de la DQO de difícil degradación.

IV.5.4. Comportamiento del sistema bajo la adición diaria de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares generados en un digestor aerobio de fangos.

Al igual que en los capítulos anteriores, se ha realizado una evaluación del comportamiento de los distintos parámetros empleados para el seguimiento y control del sistema de lodos activos y la estimación de la producción de fangos residuales generados en el sistema.

Evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión, purga de lodos y edad del fango

La Figura IV.59 muestra la evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión determinados en el tanque de aireación tanto en el periodo de puesta en marcha, en el que el sistema de lodos activos operó de forma aislada, como cuando se introdujeron los productos solubles de la digestión aerobia de fangos.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.59. Evolución de los STS y SVS en el tanque de aireación en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares.

Tal y como se observa en la figura anterior, durante la etapa de aclimatación del fango a las condiciones del laboratorio, se produjo un descenso de la concentración de sólidos totales y volátiles en el reactor de aireación hasta su estabilización en torno a $2,63 \pm 0,07$ g/l. El día 15 de ensayo, comenzó la adición de los exopolímeros y enzimas hidrolíticas obtenidos en el proceso de digestión aerobia de los fangos. Durante los primeros días de esta fase, caracterizada por un THR de 11 horas, la concentración de sólidos apenas sufrió variación, pero a partir del día 18 de ensayo, comenzó a descender muy paulatinamente. Este descenso no fue tan acusado como el observado en ensayos anteriores con otras estrategias de minimización. Al finalizar esta etapa, la concentración de sólidos se estabilizó en torno a 1,85 g/l, lo que supuso un descenso neto en la concentración de sólidos en la cuba de aireación de 0,78 g/l (2,72 g menos de fangos en el reactor considerando el volumen del mismo).

El día 30 de ensayo, se decidió aumentar el caudal de alimentación al sistema de lodos activos convencional, reduciéndose el tiempo hidráulico de residencia a 7 horas. La respuesta del sistema a estas nuevas condiciones de operación fue un aumento en la concentración de sólidos en suspensión, llegando a superar los 2,70 g STS/l. Es de destacar que, al contrario de lo observado en otros ensayos de este estudio, el porcentaje de materia volátil no alcanzó el 100% durante esta fase y se mantuvo en torno al 92%. Este hecho pudo estar motivado por la adición del sobrenadante del digestor aerobio en el que, como se ha comentado anteriormente, además de exopolímeros y enzimas hidrolíticas se añadía materia en suspensión, principalmente fracción mineral debido al alto grado de estabilización del fango alcanzado en este sistema como se comprobará más adelante.

A partir del día 35 de ensayo, la concentración de sólidos en el tanque de aireación volvió a descender hasta estabilizarse en torno a 2 g STS/l al final del ensayo (día 46). Esta tendencia a la disminución del contenido en materia en suspensión en el sistema indica que la adición de los productos extracelulares generados en la unidad de digestión aerobia tuvo que ejercer un efecto sobre la producción de fangos en el sistema. Para comprobar esta afirmación, en la Figura IV.60 se presenta la cantidad de fangos purgados del sistema (purga acumulada, g) en cada una de las etapas en las que se dividió el ensayo.

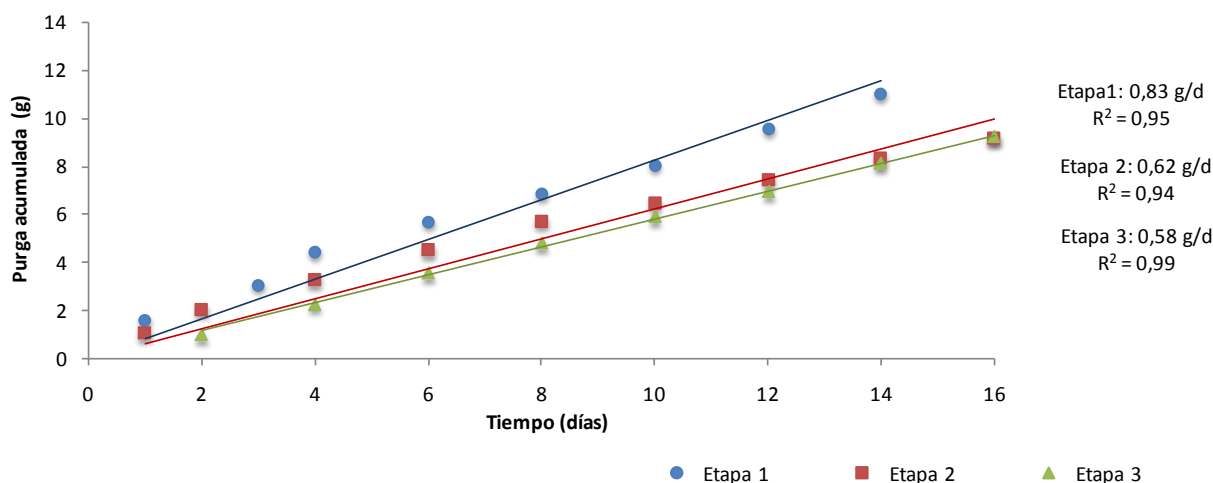


Figura IV.60. Cantidad de fangos purgados diariamente del sistema en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares.

Durante las etapas 2 y 3, en las que se adicionaron las exoenzimas y los exopolímeros, la cantidad de fangos purgados del sistema de lodos activos fue menor que la obtenida durante la fase de aclimatación de los fangos. En concreto, la tasa de purga de fangos fue de 0,62 g/d en la etapa 2 y 0,58 g/d en la etapa 3, que frente a los 0,83 g/d registrados en la fase de aclimatación, supuso un descenso del 25 y 30% respectivamente. Estos descensos fueron menores a los obtenidos en el proceso OSA, donde llegó a alcanzarse el 60% de reducción (ver apartado IV.4.3) pero del mismo orden de magnitud que los obtenidos a través de la adición en continuo del TCS (ver capítulo IV.3.3.).

Al comparar estos resultados con los obtenidos en el ensayo de tiempos hidráulicos de residencia (ver Figura IV.18 y Figura IV.19) la purga de fangos se redujo en un 27% y 38%, respectivamente para los THR de 11 y 7 horas.

La conexión entre el sistema de lodos activos y el digestor aerobio de fangos no sólo se limitó al traspaso del sobrenadante generado en espesador al tanque de aireación del primero sino también a la transferencia de los fangos del decantador secundario del tanque de aireación al digestor aerobio. Por ello, en la siguiente figura se presenta la evolución de los sólidos totales y volátiles en suspensión en el digestor aerobio de fangos durante las etapas 2 y 3 del ensayo.

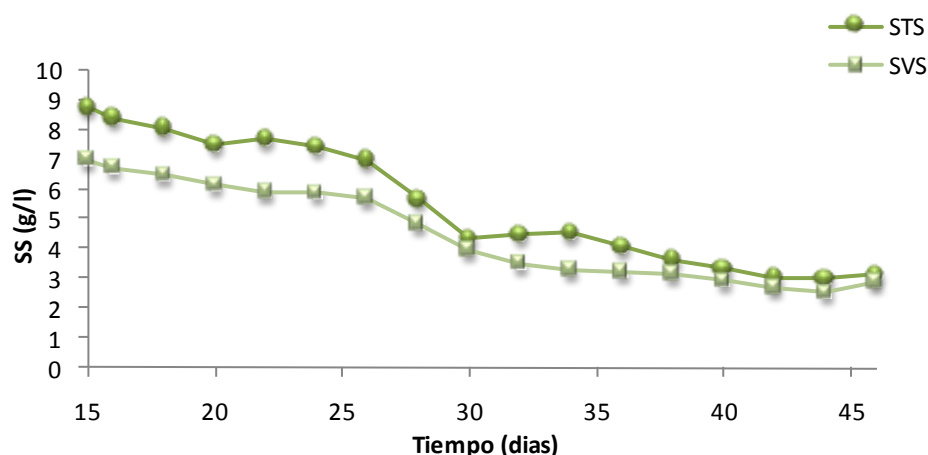
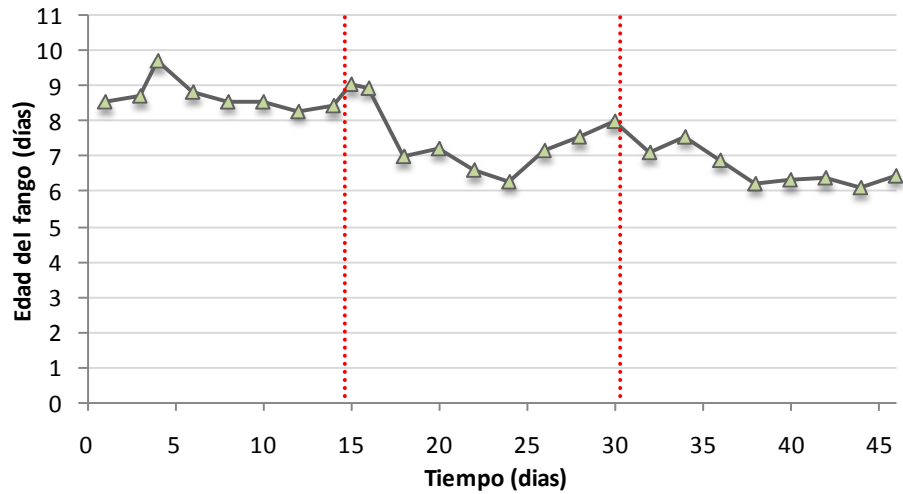


Figura IV.61. Evolución de los sólidos en suspensión en el digestor aerobio de fangos

En la Figura IV.61 se observa que tanto los STS como los SVS en el digestor aerobio disminuyeron en el transcurso del ensayo. Esta evolución se debió, por una parte, al menor aporte de fangos procedentes del sistema de lodos activos, ya que la cantidad de fangos purgados disminuyó durante las fases 2 y 3 del estudio, y, por otra, a la oxidación total de los fangos, hasta CO_2 y H_2O , garantizada a través de la elevada edad del fango mantenida en el digestor. El porcentaje de materia volátil se mantuvo en torno al 83% en el digestor aerobio de fangos.

Para finalizar este apartado, en la Figura IV.62 se presenta la evolución de edad del fango a lo largo del ensayo. En ella se puede comprobar como, durante la fase de aclimatación de los fangos a las condiciones de laboratorio, el tiempo de retención celular se mantuvo entorno a los 9 días. Posteriormente, una vez iniciada la adición de los productos extracelulares generados en la digestión aerobia de fangos (etapa 2), este parámetro disminuyó por debajo de 8 días. Durante esta fase del estudio, la edad del fango promedio fue de $7,53 \pm 0,97$ días para descender hasta $6,63 \pm 0,57$ días en la etapa 3. Como se ha comprobado, este descenso no estuvo motivado por un aumento en la purga de los fangos (figura IV.60) sino que se debió simplemente a que la cantidad neta de sólidos en el sistema disminuyó por efecto de la solubilización de la MOCP y el propio fango.



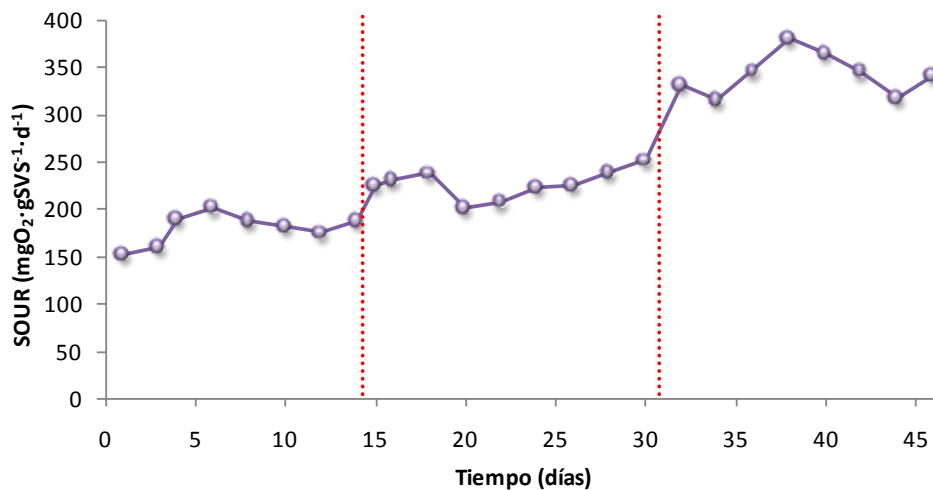
Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.62. Edad del fango en el sistema de lodos activos en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares

Actividad respiratoria de los fangos: evolución del SOUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)

257

La Figura IV.63 muestra la evolución de la tasa específica de respiración a lo largo de las 3 etapas en las que se dividió el ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.63. Evolución del SOUR en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares

Durante la fase de aclimatación (etapa 1) la tasa de respiración promedio en el tanque de aireación de la unidad convencional de lodos activos fue $179,18 \pm 16,68 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. A diferencia de otros ensayos, la actividad respiratoria de los fangos fue bastante estable y no se registraron fluctuaciones importantes durante la misma.

Al iniciarse la adición de los productos extracelulares de la digestión aerobia de fangos sobre el tanque de aireación se produjo un incremento inmediato de la actividad respiratoria de los fangos, registrándose un primer máximo cercano a $240 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Dada la rapidez con la que se produjo este aumento ante la adición de los compuestos extracelulares de la digestión, es lógico pensar que ambos hechos debieron estar correlacionados.

A los 20 días de ensayo el valor del SOUR descendió a $200 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ pero a partir de ese mismo día describió un crecimiento gradual diario hasta valores en torno a $250 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, registrados al finalizar la segunda etapa de ensayo.

Al disminuir el tiempo de residencia hidráulico en la cuba de aireación (etapa 3), la tasa de respiración se incrementó debido a la mayor carga aplicada al sistema. El SOUR medio obtenido en esta etapa fue $342,48 \pm 22,39 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, lo que supone un incremento de más del 90% con respecto al valor obtenido durante la fase de aclimatación. Aunque no es posible asociar *a priori* este ascenso exclusivamente a la solubilización de la materia orgánica y particulada por medio de las enzimas extracelulares generadas en la digestión aerobia de fangos, la evolución observada en la tasa de respiración en la etapa 2 indicó que la adición de estos productos favoreció la activación de los microorganismos presentes en el fango activo.

258

A pesar de que el digestor aerobio en este ensayo constituyó una unidad auxiliar, es importante conocer el grado de estabilización alcanzado en el mismo. Uno de los parámetros que pueden emplearse como indicador de dicho grado es la tasa de respiración que presenta ya que, al no existir aporte externo de materia orgánica, refleja el metabolismo basal o endógeno de los fangos presentes en el reactor de digestión. Según la bibliografía, valores superiores a $240 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ son característicos de un lodo activo sin estabilizar, considerando que el fango se encuentra estabilizado cuando el SOUR es inferior a $48 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (Mavinic D.S. y Koers D.A., 1979).

En la Figura IV.64 se presenta la evolución tanto del SOUR endógeno ($\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) como del OUR ($\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), que es la tasa de consumo de oxígeno. Ambos parámetros están directamente relacionados, de hecho el primero se obtiene del segundo, pero en este caso se estima conveniente presentar y comentar la evolución de ambos parámetros de forma independiente.

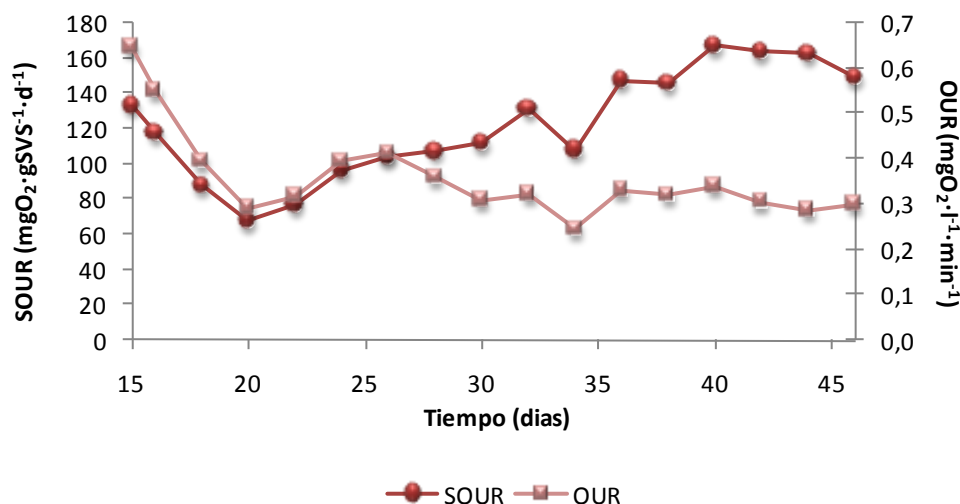


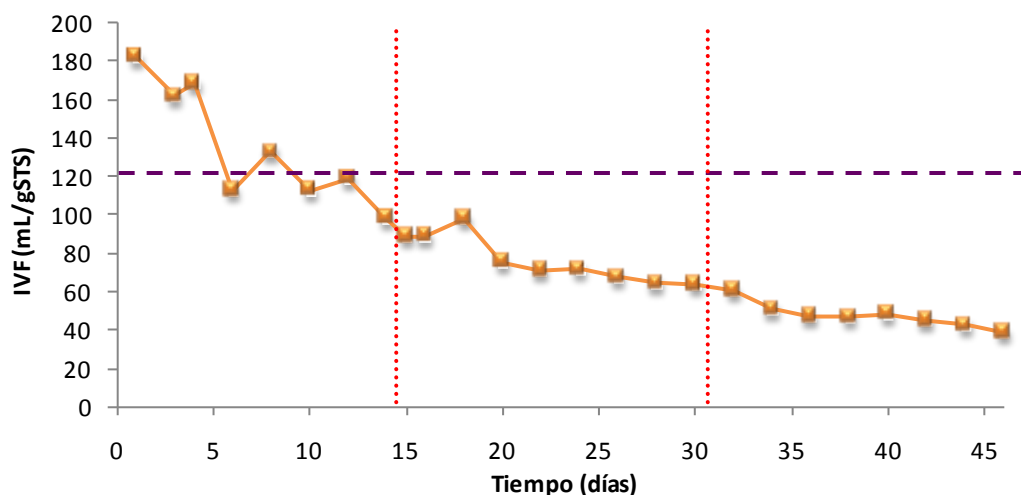
Figura IV.64. Tasa de respiración endógena (SOUR, $\text{mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) y tasa de consumo de oxígeno (OUR, $\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$) en el digestor aerobio de fangos.

En la Figura IV.64 se observa que la tasa de consumo de oxígeno (OUR) describió un descenso acusado durante los 5 primeros días desde el comienzo del seguimiento de esta unidad. Después de una ligera subida a los 26 días comenzó a descender de nuevo estabilizándose en torno a $0,3 \text{ mgO}_2 \cdot \text{min}^{-1}$ y mostrándose invariable a lo largo del tiempo hasta la finalización del ensayo. Este valor correspondió al metabolismo basal de los fangos presentes en el digestor. La evolución observada puede ser considerada la curva típica del proceso de estabilización aerobia de fangos.

Por su parte, el SOUR describió durante los primeros días una evolución paralela a la tasa de consumo de oxígeno (OUR), registrándose el día 20 de ensayo el menor valor mínimo del SOUR en la unidad de digestión ($67,98 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). A partir de ese día, el SOUR experimentó un ascenso paulatino hasta estabilizarse en torno a $155 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Este incremento estuvo motivado por una menor concentración de sólidos en el digestor y no por un aumento de la actividad metabólica de los fangos, tal y como refleja la evolución del OUR. En cualquier caso, el SOUR no bajó de $48 \text{ mgO}_2 \cdot \text{gSVS}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ en ningún momento del ensayo, por lo que no se puede considerar que el fango estuviera estabilizado al 100%, aunque sí próximo a este estado.

Evolución del índice volumétrico de fangos y la sedimentabilidad del fango

Al igual que en el resto de los ensayos, se evaluó el efecto de la adición de los productos solubles de la digestión aerobia sobre la capacidad de sedimentación de los fangos. En la Figura IV.65 se muestra la evolución del índice volumétrico de fangos (ml/gSTS) en el reactor de aireación a lo largo de las tres fases en las que se dividió el ensayo.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.65. Evolución del IVF sistema en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares

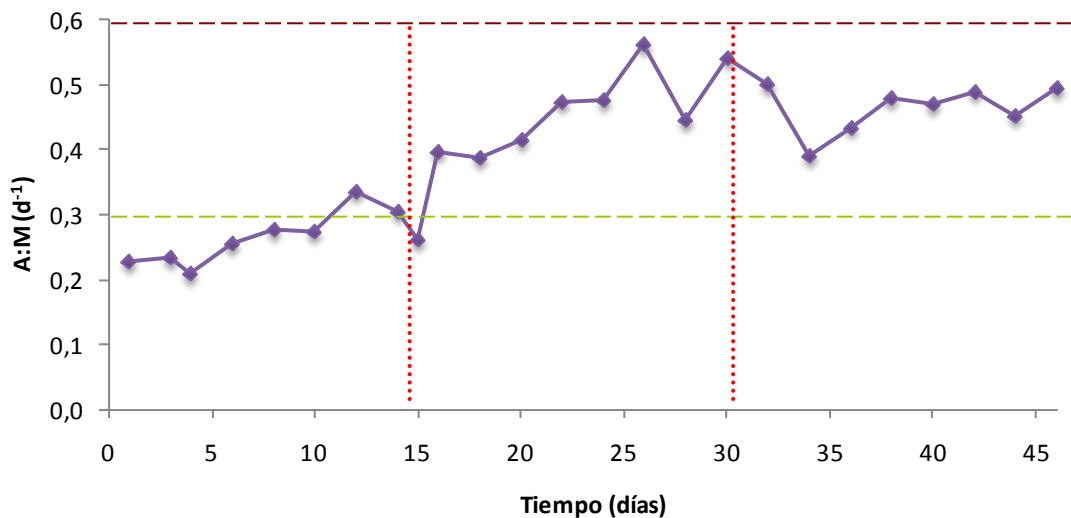
Salvo durante la fase de aclimatación, el fango de la unidad convencional de lodos activos presentó una buena decantabilidad, no registrándose valores de IVF (ml/gSTS) tan elevados como los observados en otros ensayos de esta memoria. De hecho, el valor máximo alcanzado fue 180 mgSTS/l el día 1 de ensayo. Esta baja capacidad inicial de separación del manto de fangos del agua depurado no estuvo asociada al crecimiento masivo de organismos filamentosos, tal y como reflejó la observación al microscopio óptico que será comentada a continuación. Por lo tanto, pudo estar relacionada con el cociente A:M cuya evaluación a lo largo del ensayo se presenta en la Figura IV.66. En ella se observa como, durante la fase de aclimatación, el cociente *alimento: microorganismos* se situó fuera del rango considerado óptimo, siendo este uno de los factores que pudieron causar la baja sedimentabilidad de los fangos.

Continuando con el análisis de la decantabilidad de los fangos, en la Figura IV.65 se observa que en las etapas 2 y 3, en las que se adicionaron los productos solubles de la digestión al tanque de aireación, se produjo un descenso paulatino en el IVF. Durante estas etapas, los valores de IVF se situaron por debajo del límite fijado (120 ml/gSTS) indicando una muy buena sedimentabilidad de los fangos. Concretamente, para THR de 11 horas, el valor

promedio del IVF fue 77 ± 12 ml/gSTS, y de 47 ± 6 ml/gSTS para THR = 7 horas. En este último caso cabe destacar que, al contrario de lo que ocurría en anteriores ensayos, al aumentar el caudal de alimentación al sistema (etapa 3) no se produjo una pérdida de la capacidad de sedimentación del fango. De hecho, el fango presentó una mayor capacidad de agregación que estuvo favorecida por la adición de los exopolisacáridos y exoproteínas resultantes de la digestión aerobia que actuaron como ligandos entre los flóculos. Algunos autores consideran que estos exopolímeros, junto con iones multivalentes, favorecen la formación y la sedimentación de los flóculos biológicos en sistemas de tratamiento tanto aerobios como anaerobios (Tchobanoglous *et al.*, 2003).

Se puede concluir, por tanto, que la adición de los productos extracelulares presentes en el sobrenadante del digestor aerobio produjo, además de la solubilización del fango, un aumento de su capacidad de sedimentación siendo éste un beneficio secundario del esquema de tratamiento propuesto.

Volviendo a la Figura IV.66, durante las etapas 2 y 3 del ensayo el cociente A:M se mantuvo en el rango óptimo ($0,3-0,6$ d⁻¹), con algunas fluctuaciones motivadas principalmente por las variaciones de sólidos registradas en el reactor aerobio (ver Figura IV.59), ya que la alimentación sintética empleada presentó una DQO prácticamente constante (≈ 450 mg/l).

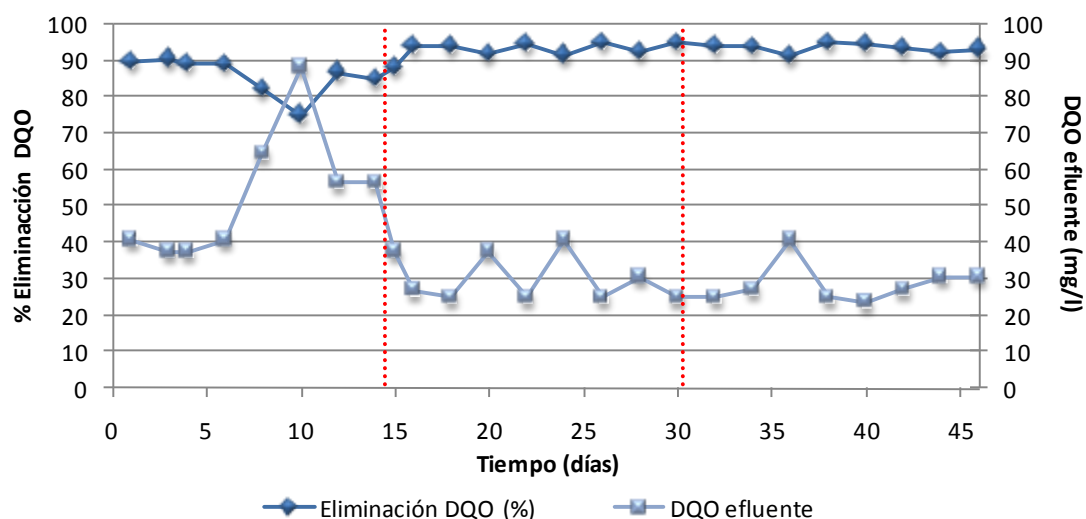


Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.66. Evolución de la relación A:M en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares

Rendimiento de la depuración

En la Figura IV.67 se muestran los valores de DQO del efluente y el rendimiento del sistema de lodos activos convencional durante los 46 días en los que se desarrolló este ensayo, diferenciando las distintas fases de operación que se corresponden con las establecidas en la Tabla IV.31.



Nota: las líneas rojas discontinuas separan las etapas en las que se dividió el ensayo.

Figura IV.67. Evolución del rendimiento de depuración y DQO del efluente en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares

Como se puede comprobar en la figura anterior, en ninguno de los 46 días de duración del ensayo, el valor de la DQO en el efluente superó el límite establecido en la Directiva 91/271/CEE y el Real Decreto Ley 11/1995 (125 mgDQO/l). Más aún, en ninguno momento la DQO rebasó el valor de 100 mg/l, por lo que, en líneas generales, se puede afirmar que el proceso de depuración fue altamente eficaz durante todo el periodo de estudio. Los valores de DQO más elevados se obtuvieron durante la fase de aclimatación del fango, donde se produjeron episodios puntuales de esponjamiento de fangos, con pérdidas prácticamente inapreciables de sólidos pero que provocaron un empeoramiento de la calidad del efluente.

Una vez comenzó la adición de los productos extracelulares de la digestión sobre el sistema de lodos activos, los valores de DQO del efluente fueron inferiores a 50 mg/l, alcanzándose incluso valores cercanos al límite de detección. Si bien es cierto que durante las etapas 2 y 3 se produjo un incremento en la actividad respiratoria de los fangos, como se pudo observar en la Figura IV.63, estos valores de DQO en el efluente tan bajos no han sido detectado en otros ensayos del presente estudio sobre estrategias de minimización de producción de fangos residuales, en los que igualmente se producía un incremento de la tasa de respiración de los

fangos activos. Por tanto, estos resultados tan satisfactorios debieron ser fruto del proceso de solubilización de la materia orgánica particulada y coloidal que, una vez transformada en pequeños compuestos solubles fuera de la célula, fueron metabolizados en el interior de las mismas, siendo inferior la cantidad de materia orgánica refractaria presente en el licor mezcla.

Respecto a los porcentajes de eliminación de materia orgánica indicar que durante la fase de puesta en marcha del sistema, el rendimiento se situó en el 86%, alcanzando el 93% y 94% en las etapas 2 y 3 de este ensayo, respectivamente. Estos rendimientos son los máximos obtenidos en todo el estudio por lo que se confirma el efecto positivo que produjo la adición de las enzimas hidrolíticas y exopolímeros obtenidos en la unidad de digestión aerobia de fangos sobre el sistema de lodos activos, y son el reflejo del proceso de solubilización de la materia orgánica particulada y coloidal, como ya ha sido explicado anteriormente.

Evaluación microscópica: seguimiento de poblaciones y recuento de bacterias.

El inóculo inicial se caracterizó por la presencia de una gran cantidad de *Euplotes* sp. y otros *Espirotricos* reptantes de tamaño medio. Igualmente, se apreciaron algunos *Peritricos*, individuales (*Vorticellas*) y en colonias (*Epistylis* sp.). Las bacterias filamentosas se encontraban asociadas a los flóculos, creando la estructura de los mismos, sin llegar a formar puentes interfoculares. A diferencia de lo observado en otros ensayos del presente estudio, al cambiar la alimentación real por la alimentación sintética no se produjo una desestabilización de la comunidad microbiana del fango activo. De hecho, no se apreció la presencia de organismos zooflagelados, indicadores de un fango inmaduro, ni tampoco se registró un crecimiento masivo de organismos filamentosos.

A partir del día 15 de ensayo, día en que comenzó la adición de los compuestos extracelulares de la digestión de fangos en el sistema de lodos activos, se observó un cambio en las poblaciones presentes en el fango, pasando a ser las *Aspidiscas* sp. y *Vorticellas* los protozoos más abundantes. También se observaron poblaciones de *Litonotus* sp. y *Euplotes* sp., pero en menor densidad. Al final de la etapa 2 de ensayo, se observaron algunos rotíferos reptantes, indicando que el fango había alcanzado una considerable estabilidad y madurez, a pesar de que la edad del fango disminuyó en esta etapa con respecto a la fase de aclimatación (ver Figura IV.62).

Al disminuir el tiempo hidráulico de residencia en el reactor de aireación no se observó alteración alguna en la composición de la comunidad microbiana (rotíferos, *Aspidiscas*, *Litonotus*, *Euplotes*). Además de los rotíferos, aparecieron igualmente en el fango activo algunos nematodos. A lo largo de los 46 días de ensayo, las filamentosas se encontraron en bajo número y dentro de la estructura de los flóculos favoreciendo la agregación de los mismos.

A tenor de los resultados del seguimiento de las poblaciones en el fango activo, se puede concluir que la evolución observada muestra una sucesión ecológica desde un estadio inicial de adaptación a las condiciones de laboratorio, hasta un medio estabilizado y maduro caracterizado por una elevada diversidad y la presencia de organismos heterótrofos bacteriófagos. En ningún caso, la solubilización de los fangos y la MOPC por parte de las exoenzimas del proceso de digestión provocó la alteración de esta sucesión ecológica.

El recuento de bacterias totales y activas mediante la doble tinción con los fluorocromos DAPI y CTC, reportó los siguientes resultados:

Tabla IV.33. Recuento de células totales y activas bajo la combinación lodos activos-digestor aerobio de fangos

Etapas	Día de ensayo	Células totales-DAPI (x 10⁹ cel./ml)	Células activas-CTC (x 10⁹ cel./ml)	% Cél. Activas
Etapas 1	2	37,2	6,0	16
	8	39,6	6,5	16
	14	36,1	6,2	17
Etapas 2	17	37,2	6,4	17
	22	39,4	7,4	19
	28	39,0	8,2	21
Etapas 3	32	48,1	9,8	20
	40	47,3	10,5	22
	46	53,6	15,4	29

Si se analizan en detalle los datos expuestos en la tabla, se observa que tanto la concentración del número de células totales como activas se mantuvo prácticamente constante a lo largo de los primeros 20 días, periodo que abarca la etapa 1 y parte de la etapa 2 de ensayo. El porcentaje de células activas sobre el total de células contabilizadas fue del 16-17%, valores similares a los obtenidos durante la puesta en marcha del reactor en otros ensayos desarrollados en este estudio.

Tras varios días desde el inicio del traspaso de parte del sobrenadante obtenido en el espesador de los lodos digeridos a la unidad de aireación del sistema de lodos activos, se observó un incremento en el número de células totales y activas, si bien las células con actividad respiratoria crecieron en mayor proporción que el resto. De esta forma, en los días 22 y 28 de ensayo, correspondientes a la etapa 2, el porcentaje de células activas fue del 19 y 21%,

respectivamente. Al aumentar la carga orgánica aplicada al sistema de lodos de activos, se produjo un incremento del porcentaje de células activas, de tal forma que durante la etapa 3 de ensayo este cociente se incrementó del 20 al 29%. Este aumento fue superior al observado bajo las mismas condiciones en el estudio del TCS (ver capítulo IV.3), pero no se alcanzaron los porcentajes obtenidos durante la aplicación del esquema de tratamiento OSA (ver capítulo IV.4).

El incremento en el porcentaje de células activas en el tanque de aireación durante las fases 2 y 3 del estudio permite explicar el aumento de la tasa de respiración del fango activo (ver Figura IV.63) como resultado de la solubilización del fango mediante las exoenzimas del proceso de digestión de lodos y no sólo como respuesta a la presencia de organismos superiores en el fango.

Ensayos en discontinuo de evaluación del crecimiento microbiano

En este apartado se presentan los resultados de los ensayos en discontinuo realizados para la determinación de la tasa de crecimiento del fango activo bajo las dos condiciones de operación que caracterizaron el presente ensayo. La Tabla IV.34 muestra los resultados obtenidos en la etapa 2 del ensayo.

Tabla IV.34. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares (etapa 2: $THR_{\text{aireación}} = 11\text{ h}$)

Tiempo (h)	SVS(mg/l)	DQO (mgO ₂ /l)	Y_{obs} (mgSVS/mg DQO)
0	1.430	842,01	-
2	1.500	597,56	-
5	1.610	448,17	-
24	1.750	50,93	0,40

La tasa de crecimiento observada, expresada como incremento en la concentración de sólidos volátiles por DQO consumida, bajo tiempo hidráulico de residencia de 11 h fue 0,40 mg / mg. Al comparar este valor con el obtenido en el ensayo de la influencia del tiempo de residencia en la producción de fangos en exceso comentado en el apartado IV.2 ($Y_{\text{obs}} = 0,43$ mgSVS/mgDQO para $THR = 11\text{ h}$), se detecta que el descenso en la tasa de crecimiento producido por la solubilización del fango a través de las exoenzimas de la digestión de lodos, fue prácticamente inapreciable (inferior al 7%).

Del mismo modo para un $THR_{\text{aireación}} = 7 \text{ h}$ se determinó la tasa de crecimiento del fango activo, siendo los resultados mostrados en la Tabla IV.35.

Tabla IV.35. Evolución de SVS y DQO y obtención de la tasa de crecimiento observada en el ensayo de adición de enzimas hidrolíticas y polímeros extracelulares (etapa 3: $THR_{\text{aireación}} = 7\text{h}$)

Tiempo (h)	SVS(mg/l)	DQO (mgO ₂ /l)	Y_{obs} (mgSVS/mg DQO)
0	2.060	1039,62	-
2	2.140	792,71	-
5	2.370	298,89	-
24	2.540	51,98	0,49

Los fangos de la etapa 3 del ensayo se caracterizaron por tener una tasa de crecimiento de 0,49 mg SVS/ mg DQO, superior al valor obtenido en la etapa 2, tal como era esperable. A pesar de que el consumo de materia orgánica fue mayor en este test que el desarrollado con los fangos de la etapa 2, se registró un mayor incremento en la concentración de biomasa. Asimismo, este valor es ligeramente superior al obtenido en el ensayo de variación de tiempos de residencia, en el que la tasa de crecimiento para THR de 7 horas fue 0,47 mg SVS/ mg DQO (ver Tabla IV.8) bajo las mismas condiciones de operación.

Los resultados obtenidos en ambos ensayos en discontinuo permiten concluir que la adición de las exoenzimas obtenidas en la digestión aerobia de fangos sobre el sistema de lodos activos convencional, no tuvo efecto alguno sobre la tasa de crecimiento observado, al contrario de lo registrado bajo la adición continua de TCS y el esquema de tratamiento OSA. Estos resultados no deben ser considerados contradictorios al comportamiento observado en el sistema, sino todo lo contrario, ya que con la adición de las exoenzimas se perseguía la solubilización del fango y la materia orgánica particulada y coloidal, y en ningún caso la disociación del metabolismo celular. Igualmente, permiten explicar el comportamiento de algunos de los parámetros analizados, como el descenso lento de la concentración de sólidos en el sistema de lodos activos, no observado en otros ensayos del presente estudio.

IV.5.5. Conclusiones

A tenor de los resultados obtenidos en el seguimiento del sistema en las distintas etapas en las que se dividió el ensayo, se obtienen las siguientes conclusiones:

- La adición de los productos extracelulares de la digestión aerobia de fangos en un sistema convencional de lodos activos permitió reducir la cantidad de fangos purgados del sistema en un 30% con respecto al esquema convencional. Dicha reducción no estuvo causada por una menor tasa de crecimiento microbiano, sino por la solubilización del fango y de la materia orgánica particulada y coloidal. Presumiblemente, esta reducción será de mayor intensidad en aquellos sistemas que reciban un agua con un mayor aporte de materia orgánica particulada y coloidal, donde la solubilización de esta materia orgánica alcanzará registros superiores a los observados en este ensayo.
- El rendimiento de eliminación de materia orgánica del sistema mejoró al realizar el aporte de las exoenzimas generadas durante la digestión aerobia de fangos, alcanzándose porcentajes de eliminación superiores al 90% y a los obtenidos en el esquema convencional de tratamiento y en otros ensayos descritos en la presente memoria. Este elevado rendimiento estuvo propiciado por un incremento general de la actividad del fango, detectada tanto a nivel macroscópico, a través del SOUR, como a nivel microscópico, al incrementarse el porcentaje de células activas en el fango activo. Asimismo, la gran estabilidad que presentó el manto de fangos en el decantador secundario evitó la pérdida de sólidos a través del efluente final que hubiera provocado, de producirse, un notable empeoramiento de la calidad del efluente final.
- La decantabilidad de los fangos mejoró notablemente al adicionar los productos solubles de la digestión en la cuba de aireación que actuaron como ligandos entre los flóculos y favorecieron la agregación de los mismos. Los valores de IVF se situaron por debajo del límite de referencia (120 ml/gSTS) durante las etapas 2 y 3 de ensayo en la que se conectaron ambos sistemas. De hecho, al aumentar el caudal de alimentación del sistema y situarse cercano a las condiciones convencionales de tratamiento, no se observó un empeoramiento de la capacidad de sedimentación de los fangos como había ocurrido en otros ensayos, destacando la elevada estabilidad del manto de lodos en el decantador secundario.

La recirculación del sobrenadante obtenido tras la estabilización biológica de fangos a cabecera de planta es una práctica habitual en aquellas estaciones de tratamiento que incorporan un sistema de digestión aerobio o anaerobio en su línea de fangos. Por tanto, los resultados obtenidos en este ensayo conllevan a realizar la siguiente reflexión: si con la recirculación de este sobrenadante se está añadiendo enzimas hidrolíticas y otros compuestos extracelulares que, como se ha comprobado en este ensayo, favorecen la solubilización del fango, quizá la no recirculación del mismo provocaría un aumento en la producción de fango.

IV.6. Estudio de viabilidad técnico-económica de las estrategias para reducir la producción de fangos en sistemas de lodos activos.

La aplicación de las distintas estrategias estudiadas para la minimización de la producción de fangos en un sistema de lodos activos lleva asociado un coste económico que, a la hora de valorar y comparar los resultados, resulta de gran interés. De nada serviría reducir la producción de fangos si el coste asociado a la aplicación de estas estrategias superara el coste de tratamiento y gestión de estos residuos. Por eso, en este capítulo, se realiza un balance entre los costes de aplicación de las estrategias de reducción de fangos descritas en esta memoria y el ahorro asociado a su aplicación. Asimismo, y a fin de facilitar la toma de decisiones en relación a cuál de las alternativas a implantar es la más adecuada, se presentan otros criterios técnicos (sencillez operativa, requerimiento de superficie) y ambientales (riesgo potencial para el medio ambiente) asociados a cada una de las estrategias.

IV.6.1. Valoración económica de las estrategias para la reducción de los fangos

El punto de partida de este análisis económico es conocer el coste asociado a la gestión de fangos. Como se comentó en el capítulo II de Antecedentes Bibliográficos, la gestión de los lodos de depuradora supone un porcentaje considerable de los costes de una estación depuradora, concretamente, entre el 25 y el 65% de los costes totales. En la Tabla II.12, incluida en el capítulo de Antecedentes, se recopila algunos datos de costes asociados al tratamiento final de los lodos de depuradora. En ella se observa que el tratamiento más económico resulta ser el compostaje *windrow* tanto en inversión (90-240 €/ton materia seca y año) como en explotación (20-85 €/ton materia seca). Por el contrario, el tratamiento más caro es la incineración (+ turbina de vapor) para el cual los costes superan los 2.000 €/ton materia seca y año en inversión y los 300 €/ton materia seca en explotación. Es en estos casos, donde la reducción en la cantidad de fangos residuales generados en un sistema biológico de depuración puede suponer un ahorro de miles de euros al año.

El ahorro derivado de la aplicación de estrategias para reducir la cantidad de fangos generados en un sistema de lodos activos se hace ya patente durante la fase de diseño y dimensionamiento de la línea de fangos de una estación depuradora. Esto es, a menor cantidad de fangos que necesitan un tratamiento posterior, menores son las dimensiones requeridas de todas las unidades que compondrán la línea de tratamiento, con el consecuente ahorro en la inversión en infraestructura. Incluso si la producción de fangos residuales se redujera notablemente, podría considerarse otras alternativas al tratamiento en la misma instalación como, por ejemplo, el traslado de los fangos generados a otra estación depuradora o centro de tratamiento de lodos y no sería necesaria la construcción del sistema de tratamiento completo (sólo un espesador de fangos, deshidratación y almacén).

En el caso de que la EDAR a la que se va a aplicar algunas de las estrategias estudiadas disponga de una línea de tratamiento de fangos completa operativa, el ahorro derivado de una menor producción de fangos vendrá determinado por el porcentaje de costes variables y dependientes de la cantidad de fangos tratados. Es decir, en una instalación ya construida, los costes fijos se mantendrían invariables ante una mayor o menor producción de fangos.

Para visualizar de una forma más clara el ahorro que supondría la implantación de cada una de las estrategias en una estación que dispone de línea de tratamiento de fangos, se expone, a continuación, un supuesto teórico. Consideremos una estación de tratamiento de aguas para una población equivalente de unos 300.000 h.e. (54.000 m³/día) y que dispone de línea de tratamiento de fangos con digestión anaerobia (espesamiento, digestión anaerobia, filtros banda). La cantidad de fangos generados y los costes aproximados de tratamiento de los mismos (sin incluir los costes de tratamiento final) se presentan en la siguiente tabla (datos estimados en base a datos recopilados de varias EDAR de Andalucía).

Tabla IV.36. Datos de generación de lodos en EDAR con digestión anaerobia y costes asociados

Unidad	Parámetro	Cantidad
Decantación primaria (lodos primarios)	(a) Volumen anual lodos primarios purgados (m ³)	417.854
	(b) ST primarios (mg/l)	15.055
	(c) ST espesados (mg/l)	68.429
	(d) Volumen anual de lodos espesados a digestión (m ³)	91.932
	(e) Total lodos primario a digestión anual (kg)	6.290.792
Decantación secundaria (lodos biológicos)	(f) Volumen anual lodos secundarios purgados (m ³)	996.051
	(g) ST secundarios (mg/l)	4.212
	(h) ST flotados (mg/l)	45.569
	(i) Volumen anual de lodos flotados a digestión (m ³)	92.066
	(j) Total anual lodos secundarios a digestión (kg)	4.195.367
Entrada a digestores anaerobios	(k) Total anual fangos: 1º+2º (kg)	10.486.159
	(l) Porcentaje primarios (en kg)	60 %
	(m) Porcentaje secundarios (en kg)	40 %
	(n) Volumen anual de fangos totales a digestión (m ³)	183.998
	(o) ST a digestión (mg/l)	56.991
Digestor anaerobio	(p) Volumen digestión (m ³)	22.000
	(q) ST en digestores (mg/l)	62.791
	(r) M.V. en digestores	49,61
	(s) pH	7,25
Salida digestor anaerobio- Deshidratación	(t) Torta lodos no deshidratados (kg/año)	34.604.324
	(u) kg torta lodos/kg fango a digestión	3,3
	(v) Sequedad (Kg mat. seca/kg torta fangos)	18,50 %
	(w) Materia seca torta lodos (kg/año)	6.403.457
Consumos y costes	(x) Consumo eléctrico (kwh/año)	1.341.867
	(y) kg poli/ ton materia seca	8,5
	(z) Poli secado (kg/año)	54.595
	(aa) €/kg poli	3,0
	(bb) Coste de poli para secado (€/año)	163.784

De la tabla anterior cabe destacar varios aspectos:

- Si bien el volumen de fangos primarios (a) es menor al de lodos generados en la decantación secundaria asociada al sistema biológico (f), en masa representa un mayor porcentaje. Concretamente, del total de fangos que son enviados a la unidad de digestión (k), tras las fases de espesamiento y flotación en cada caso, un 60% corresponde a los fangos primarios y un 40% a los fangos secundarios. Este hecho pone de manifiesto que la problemática de la gestión de los fangos en una EDAR está determinada en mayor medida por la cantidad de fangos primarios y, en un segundo plano, por los lodos secundarios. No obstante, estos porcentajes son valores estimados: existirán casos en los que los fangos primarios representen una menor proporción del total de fangos a estabilizar y otros casos en los que la proporción sea al 50%.
- La cantidad final de fangos producidos en una EDAR convencional que sirve a una población de aproximadamente unos 300.000 h.e., asciende a 6.400 ton materia seca/año (w). Estos fangos deben ser evacuados y recibir un tratamiento posterior en otra instalación o, al menos, ser trasladados a un vertedero autorizado. En cualquier caso, estos procesos llevan un coste asociado. Asimismo, el acondicionamiento y deshidratación de los fangos estabilizados en la propia EDAR requiere el consumo de polielectrolito, concretamente 8,5 kg/ ton materia seca (y).
- Aplicando las tarifas expuestas en la tabla anterior, los costes asociados a la deshidratación de los lodos generados en la EDAR se aproximan a los 164.000 €/año (bb). En este montante no están considerados los costes asociados al consumo eléctrico y a la mano de obra del personal, entre otros costes de explotación. Por ejemplo, considerando que el coste del Kwh. es de aproximadamente 0,11 € y el consumo eléctrico es 1.341.867 Kwh., según la tabla anterior, el coste energético sería de 147.605 €, por lo que el coste total superaría los 300.000 €/año.

La aplicación de las estrategias que han sido objeto de estudio en este trabajo de investigación, conlleva a una reducción en la producción de fangos secundarios, no ejerciendo efecto alguno sobre los fangos obtenidos durante la etapa de decantación primaria. En la Tabla IV.37 se presentan los datos de generación de fangos y costes asociados para cada una de las estrategias, considerando que la aplicación del TCS permite reducir la purga de fangos en un 35%, el proceso OSA en un 60% y la adición de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares de la digestión aerobia de fangos en un 30%.

Tabla IV.37. Datos estimados de generación de lodos y costes asociados tras la implantación de las estrategias de reducción

Unidad	Parámetro	Sistema convencional			Adición de TCS			Proceso OSA			Enzimas y otros EPS		
		Cantidad			Cantidad			Cantidad			Cantidad		
Decantación primaria (lodos primarios)	(a) Volumen anual lodos primarios (m³)	417.854			417.854			417.854			417.854		
	(b) ST primarios (mg/l)	15.055			15.055			15.055			15.055		
	(c) ST espesados (mg/l)	68.429			68.429			68.429			68.429		
	(d) Volumen anual de lodos espesados a digestión (m³)	91.932			91.932			91.932			91.932		
	(e) Total lodos primario a digestión anual (kg)	6.290.792			6.290.792			6.290.792			6.290.792		
Decantación secundaria (lodos biológicos)	(f) Volumen anual lodos secundarios (m³)	996.051			996.051			996.051			996.051		
	(g) ST secundarios (mg/l)	4.212			2.738			1.685			2.948		
	(h) ST flotados (mg/l)	45.569			45.569			45.569			45.569		
	(i) Volumen anual de lodos flotados a digestión (m³)	92.066			59.843			36.826			64.446		
	(j) Total anual lodos secundarios a digestión (kg)	4.195.367			2.726.988			1.678.147			2.936.757		
Entrada a digestores anaerobios	(k) Total anual fangos: 1°+2° (kg)	10.486.159			9.017.780			7.968.939			9.227.549		
	(l) Porcentaje primarios (en kg)	60 %			70 %			79 %			68 %		
	(m) Porcentaje secundarios (en kg)	40 %			30 %			21 %			32 %		
	(n) Volumen anual de fangos totales a digestión (m³)	183.998			151.775			128.758			156.378		
	(o) ST a digestión (mg/l)	56.991			59.416			61.891			59.008		
Digestor anaerobio	(p) Volumen digestión (m³)	22.000			22.000			22.000			22.000		
	(q) ST en digestores (mg/l)	62.791			53.999			47.718			55.255		
	(r) M.V. en digestores	49,61			49,61			49,61			49,61		
	(s) pH	7,25			7,25			7,25			7,25		
	(t) Torta lodos no deshidratados (kg/año)	34.604.324			29.758.675			26.297.498			30.450.911		
Salida digestor anaerobio-Deshidratación	(u) kg torta lodos/kg fango a digestión	3,3			3,3			3,3			3,3		
	(v) Sequedad (Kg mat. seca/kg torta fangos)	18,50 %			18,50 %			18,50 %			18,50 %		
	(w) Materia seca torta lodos (kg/año)	6.403.457			5.506.780			4.866.296			5.634.877		
	(x) C. Lodos (kwh/año)	1.341.867			1.341.867			1.341.867			1.341.867		
	(y) kg poli/ ton materia seca	8,5			0,009			0,009			0,009		
Consumos y costes	(z) Poli secado (kg/año)	54.595			46.950			41.489			48.042		
	(aa) €/kg poli	3,0			3,0			3,0			3,0		
	(bb) Coste de poli para secado (€/año)	163.784			140.850			124.468			144.126		

Para facilitar el análisis de los datos contenidos en la tabla anterior, se discutirán los resultados obtenidos en cada una de las unidades consideradas:

- *Decantación primaria:* Como ha sido comentado anteriormente, ninguna de las estrategias estudiadas en este trabajo de investigación altera la cantidad de fangos primarios (ni los reduce ni los aumenta), por lo que los valores incluidos en las casillas (a-e) son los mismos que los recogidos en la Tabla IV.36.
- *Decantación secundaria:* En la elaboración de la Tabla IV.37 se ha considerado que el volumen de lodos secundarios purgados del sistema de lodos activos se mantiene constante para las tres estrategias aplicadas (f), ya que el volumen de purga en los ensayos a escala piloto se mantuvo prácticamente invariable (ver capítulos IV.3, IV.4 y IV.5). El porcentaje de reducción de fangos alcanzado con la aplicación de cada una de las estrategias se ha aplicado, por tanto, a la concentración de ST en la purga de fangos (g) y, consecuentemente, a la cantidad de fangos eliminados de la unidad biológica de lodos activos (j). Esta cantidad (j), fruto del producto de las casillas (f) y (g), es de 4.195 ton/año aproximadamente en el sistema “convencional”. La aplicación diaria del TCS reduciría esa cantidad hasta 2.727 ton/año (35%), con el proceso OSA, 1.678 ton/año (60%) y, finalmente, con la aplicación de enzimas hidrolíticas fruto de la digestión de fangos, 2.937 ton/año (30%).

Los fangos eliminados de la unidad de lodos activos son conducidos al sistema de espesamiento, en este caso, flotación. En este ejemplo teórico, se ha considerado que la concentración de ST a la salida del flotador (h) se mantiene constante pues es una cuestión asociable a la eficiencia del propio sistema de flotación y que, en ningún caso, se ve afectado por las estrategias de reducción de fangos aplicadas. Como la cantidad de fangos que entra en el flotador es variable, y la concentración de salida es la misma, el volumen de fangos que sale de esta unidad ($\text{volumen} = \text{concentración} / \text{masa}$), y que entra en la digestión anaerobia (i), es distinto para cada una de las estrategias aplicadas. De esta forma, el volumen de lodos espesados por flotación que es enviado a digestión se reduciría de 92.066 m³/año obtenido para el sistema convencional a 59.843 m³/año para TCS, 36.826 m³/año para el proceso OSA y 64.446 m³/año para las enzimas extracelulares.

- *Entrada a digestores anaerobios:* En el sistema de digestión entra únicamente una línea de fangos, la suma de las corrientes de fangos primarios y secundarios espesados [(e) + (j) = (k)]. En el sistema convencional esta cantidad (k) es de 10.486 ton /año, y con la aplicación de las estrategias, se reduciría a 9.018 ton/año para TCS, 7.969 ton/año para el proceso OSA, y 9.228 ton/año para los productos extracelulares de digestión. Al existir una parte invariable en el sumatorio anterior correspondiente a los fangos primarios (e), la reducción en la cantidad de fangos a digerir para cada una de las estrategias ya no supone el 35%, 60% y 30% considerado al inicio del supuesto, sino que se reduce al 14%, 24% y 12% respectivamente. Estos serán, a partir de este momento, los porcentajes de reducción en la producción de fangos totales de una

EDAR asociable a cada una de las estrategias y, que hasta el momento, no había sido identificados por otros autores que trabajan en esta misma línea de investigación. Como se comprobará más adelante en este capítulo, este hecho tendrá importantes implicaciones, principalmente en el balance económico final de aplicación de las estrategias a escala real.

En cuanto al porcentaje de lodos primarios y lodos secundarios en el fango que es enviado al sistema de digestión, se pasa del 60%-40% obtenido en el sistema convencional, al 70-30% obtenido para el TCS, 79-21% para el OSA y 68-32% para los EPS. Esta variación en la proporción de fangos primarios y secundarios seguramente tendrá implicaciones en el propio proceso de digestión anaerobia, que en este estudio no han sido considerados, y en el producto final obtenido, siendo esta una de las líneas de estudio que podrían derivarse de este trabajo.

En cuanto al volumen de fangos que entra en la digestión (n), también existen diferencias entre el sistema convencional y las estrategias aplicadas, que vienen determinadas por el volumen de fangos secundarios enviados a la digestión (i). Concretamente, el volumen de fangos que se envían a la digestión es de 151.775 m³ en el caso de la dosificación del TCS (un 18% inferior al sistema convencional), de 128.758 m³ en el proceso OSA (un 30% inferior) y de 156.378 m³ en la aplicación de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares (un 15% inferior). Estas variaciones en el volumen de fangos que entran en el digestor conllevan igualmente a una variación de la concentración de ST en la corriente de entrada $[(o) = (k)/(n)]$. Así, por ejemplo, para el proceso OSA el volumen de fangos enviados a la digestión es el menor de todos los casos estudiados, pero la concentración de sólidos en dicha corriente es la mayor. De igual forma, al ser menor el volumen de fangos enviados a digestión, y ser constante el volumen de los digestores (p), el tiempo de retención de los fangos en el digestor anaerobio se incrementaría en todos los casos, alterando nuevamente el funcionamiento y rendimiento del sistema de digestión. *A priori*, al aumentar el tiempo de retención de los sólidos en el digestor anaerobio, el grado de estabilización de los fangos sería mayor al finalizar el proceso. Este sería otro de los aspectos a tratar en investigaciones futuras.

Continuando con el análisis de la unidad de digestión, en este supuesto los valores de materia volátil en el digestor (r) y el pH (s) se han considerado invariables en cualquiera de los casos estudiados. No obstante, y en relación a lo comentado anteriormente estos valores seguramente se verían alterados por el cambio en la composición de los fangos (mayor proporción de fangos primarios) y el tiempo de retención de los sólidos en el digestor.

- *Salida del digestor anaerobio-deshidratación:* La reducción en la producción de fangos secundarios derivada de la aplicación de las estrategias estudiadas, se transmite lógicamente a la cantidad de torta de fangos (t) obtenida en el proceso de deshidratación (filtros banda). Concretamente, esta cantidad se reduciría, como se ha

indicado, en un 14% para el TCS, un 24% para el OSA y un 12% para la aplicación de enzimas hidrolíticas y productos extracelulares. En este supuesto, también se ha considerado constante la sequedad (v) de la torta de fangos, aunque muy probablemente estos valores podrían verse alterados por las propiedades finales del producto obtenido en el digestor.

- *Consumos y costes:* otra de las suposiciones adoptadas en este ejemplo teórico, es considerar que tanto el consumo eléctrico (x) como la cantidad de polielectrolito añadido por tonelada de materia seca (y) se mantiene invariable en todos los casos de estudio. En cuanto al consumo eléctrico, lo más probable es que realmente no existan muchas diferencias entre el sistema convencional y aquellos casos en los que se aplican las estrategias de reducción. Por ejemplo, el consumo asociado al funcionamiento del digestor es independiente de la cantidad de fango incorporado al mismo.

Es menos probable que el consumo de poli permanezca invariable, principalmente porque es muy posible que la calidad y las propiedades del producto final de la digestión sean diferentes para cada una de las situaciones consideradas y tengan un requerimiento de poli distinto para alcanzar un mismo grado de sequedad. Como este aspecto no ha sido estudiado, a efectos prácticos, el consumo de poli se considera constante en este ejemplo. Al analizar la cantidad de polielectrolito (z) consumido en cada uno de los casos, se observa que es menor en los sistemas a los que se aplica algunas de las estrategias de reducción estudiadas que en el sistema convencional. Los porcentajes de reducción vuelven a ser del 14% para TCS, 24% para el OSA y 12% para los EPS, pues es un parámetro directamente proporcional a la cantidad de fango producido.

La Tabla IV.38 muestra el coste de tratamiento (deshidratación) de los fangos asociado a cada una de las alternativas estudiadas, y en la que se incluye el consumo eléctrico (considerado invariable).

Tabla IV.38. Estimación de costes totales para el tratamiento de fangos (deshidratación y consumo eléctrico)

	Sistema convencional	Adición TCS	Proceso OSA	Enzimas y otros EPS
Coste polielectrolito (€/año)	163.785	140.850	124.468	144.126
Coste electricidad (€/año)	147.605	147.605	147.605	147.605
Coste total (€/año)	311.390	288.455	272.073	291.731
Ahorro (€/año)		22.935	39.317	19.658

Tal y como se observa en la tabla, sólo el acondicionamiento y deshidratación de los fangos en una EDAR convencional supone un coste aproximado de 300.000 €/año. El ahorro obtenido a través de la aplicación diaria del TCS sería de 23.000 €/año, un 7% del coste asociado al tratamiento convencional. De la misma forma, con la aplicación del proceso OSA el ahorro rondaría los 40.000 €, un 13% del valor de referencia. Por último, la aplicación de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares obtenidas en el proceso de digestión aerobia conllevaría una reducción de costes de tan sólo el 6% al ser la estrategia que presenta el menor porcentaje de reducción de fangos secundarios. No obstante, este último dato tiene una segunda lectura: como se comentó en el capítulo IV.5, en aquellas EDAR con digestión aerobia de fangos, es una práctica habitual enviar a cabecera de planta el sobrenadante generado en el proceso de estabilización. Si no se acometiera esta recirculación podría ocurrir que la producción de fangos secundarios se incrementara en un 30% y los costes de acondicionamiento y deshidratación de los fangos finales en un 6%.

Hasta el momento, sólo se ha considerado el coste asociado a la preparación de los fangos para su tratamiento final o traslado a un vertedero autorizado. Por tanto, es hora de evaluar el efecto de la aplicación de las estrategias de reducción de fangos sobre el coste total de tratamiento de los fangos, incluyendo el destino final. Para ello, y partiendo de los datos recogidos en la Tabla II.12 del capítulo de Antecedentes, se seleccionan cuatro posibles tratamiento finales de los lodos deshidratados: el traslado a vertedero autorizado, el secado térmico + cogeneración, incineración y compostaje. En la Tabla IV.39 se presentan los costes para los lodos deshidratados generados en la EDAR convencional y en los casos en los que se aplica alguna estrategia de reducción.

Tabla IV.39. Coste del tratamiento final de lodos en EDAR convencional y al aplicar las estrategias de reducción

Tratamiento final	Coste unitario (€/ton materia seca)	Sistema convencional	Coste total (€/año)		
			Adición TCS	Proceso OSA	Enzimas y otros EPS
Traslado vertedero	7,5	48.026	41.301 (6.725)	36.497 (11.529)	42.262 (5.764)
Secado térmico	75*	480.259	413.009 (67.251)	364.972 (115.287)	422.616 (57.644)
Incineración	250*	1.600.864	1.376.695 (224.169)	1.216.574 (384.290)	1.408.719 (192.145)
Compostaje	40**	256.138	220.271 (35.867)	194.652 (61.486)	225.395 (30.743)

* Valores medios en función de datos recogidos en la tabla II.12

** Valor aplicado en la provincia de Cádiz

La cifra entre paréntesis corresponde al ahorro (en €/año) derivado de la aplicación de las estrategias de reducción de fangos estudiadas en este trabajo de investigación. En la tabla se observa que a medida que aumenta el coste unitario (€/ton materia seca) del tratamiento final, se incrementa significativamente el ahorro obtenido por la reducción de los fangos generados en el tratamiento biológico. El mayor ahorro se consigue, lógicamente, para el proceso OSA que es el que reduce en un mayor porcentaje la cantidad de lodos residuales generados en la EDAR. De esta forma, el ahorro iría desde los 11.500 € anuales, en caso de que el destino final fuese el vertedero, hasta más de 380.000 € anuales, si el tratamiento final consistiese en la incineración. A estos valores habría que sumar el ahorro asociado al tratamiento de deshidratación en la propia EDAR (Tabla IV.38).

Si en lugar de una EDAR con línea de tratamiento de aguas y lodos se considerara una depuradora sin esta última, típica de pequeñas poblaciones, y en la que los fangos fueran espesados y almacenados para su transporte a un centro de tratamiento de fangos, la aplicación de las estrategias estudiadas también reportaría un ahorro en la gestión de los mismos. En este caso, la adición de enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares generados en la digestión aerobia no tendría sentido, ya que supondría la implementación de una unidad de digestión, complicando y encareciendo la explotación de las instalaciones. Por el contrario, la adición del TCS y la aplicación del esquema OSA de tratamiento sí serían factibles. El coste de transporte de los fangos desde el punto de generación a la EDAR es similar al coste de traslado de los lodos deshidratados al vertedero (7,5 €/ton). En cualquier caso, el ahorro derivado de la aplicación de estas estrategias sería del 14% y 24%, respectivamente.

276

Hasta el momento, solo se ha analizado el ahorro en la gestión de los lodos de depuración derivados de la aplicación de cada una de las estrategias de reducción de fangos, pero aún no se ha considerado el costes de implantación de cada de ellas ni se ha realizado el balance final que permite obtener la viabilidad de las estrategias propuestas.

Para el TCS hay que considerar que la concentración a alcanzar en la cuba de aireación debe ser entre 0,5 y 1 mg/l. Continuando con el ejemplo de la EDAR de 300.000 h.e. y suponiendo un volumen de tanque de aireación de 30.000 m³ (3 tanques de 10.000 m³), la cantidad de TCS a añadir diariamente sería entre 15-30 kg. Considerando que el coste del TCS es 4,8 €/g (según catálogo de precios de ACROS ORGANIC), el coste total de aplicación del TCS sería de 72.000 -144.000 € al día. Los costes diarios de adición del TCS superarían, de esta forma, el ahorro anual asociado a la reducción de la cantidad de fangos secundarios producidos por la adición del compuesto químico en todos los casos salvo para la incineración. Independientemente, esta estrategia, tal y como se ha planteado en este estudio, sería **inviable** desde el punto de vista económico. No obstante, hay que tener en cuenta que el precio asignado al TCS se ha tomado de un catálogo de productos químicos para laboratorio por lo que su precio a granel podría ser inferior.

En el caso del esquema de tratamiento OSA, sería necesaria la construcción de un tanque de retención anóxico que garantizara un THR mínimo de 6 horas. El caudal diario que entra en el sistema de lodos activos es de 54.000 m³/día. Si se considera que el cociente Q_r/Q_a es igual a

uno, la capacidad del tanque de retención necesaria es de 13.500 m³. La Tabla IV.40 presenta el presupuesto estimado de la construcción de este reactor y en la que se describen brevemente las partidas para las actuaciones asociadas.

Tabla IV.40. Presupuesto construcción del tanque de retención anóxico

Actuación	Medición	Precio (€)	Importe (€)
Despeje y desbroce de terreno desarbolado por medios mecánico, con carga y transporte de la tierra vegetal y productos resultantes a vertedero o lugar de empleo	1.520,00 m ²	0,96 €	1.459,20 €
Excavación localizada en zanjas, pozos y cimientos, con transporte de sobrantes a vertedero o lugar de empleo	15.970,00 m ³	3,90 €	62.283,00 €
Encofrado oculto por el terreno, con madera o paneles fenólicos, de cualquier geometría, totalmente colocado	3.076,00 m ²	17,86 €	54.937,36 €
Acero en barras corrugadas Tipo B 500 S, elaborado y colocado en estructuras	149.600,00 Kg	1,40 €	209.440,00 €
Hormigón tipo HA-30/B/20/IIa-Qa, elaborado, transportado y puesto en obra, incluso limpieza de fondos, vibrado y curado.	1.360,00 m ³	99,29 €	135.034,40 €
Hormigón de limpieza tipo HM20/B/20/Iia puesto en obra	152,00 m ³	75,58 €	11.488,16 €
Presupuesto			474.642,12 €

Al tratarse de una cámara de anóxia, no se requiere que el sistema esté cubierto. En este presupuesto sólo está incluida la construcción del tanque de retención y no la adquisición del equipamiento complementario como los sistemas de agitación para la homogeneización del contenido del reactor o los sensores para la determinación en continuo del potencial redox. En función del tipo de tratamiento final de los fangos adoptado, la implementación del esquema de tratamiento OSA sería amortizada en un mayor o menor tiempo con el propio ahorro en costes derivado de la menor producción de fangos secundarios. Así, si el destino final de los lodos es el vertedero controlado, el tiempo de amortización, considerando que el coste asociado al destino final no variara en el tiempo, sería de 41 años aproximadamente. Sin embargo, si el destino final fuese el secado térmico el tiempo para la recuperación de costes sería de 4-5 años, 1-2 años para la incineración y 7-8 años para el compostaje.

No obstante, cabría la posibilidad de adaptar uno de los tanques de aireación como cámara de retención anóxica y, de esta forma, no sería necesaria la construcción de un nuevo tanque. En tal caso, el tiempo hidráulico de residencia en la cuba de aireación disminuiría de 13 a 9 horas y

el tiempo de retención de los sólidos en condiciones de anoxia se limitaría a 4,4 h. Estas condiciones no coinciden con las aplicadas en este trabajo de investigación, por lo que no se podría garantizar la reducción de fangos asociada a esta estrategia.

La aplicación de la última de las estrategias de reducción de fangos estudiadas en el presente trabajo de investigación, la solubilización del fango con enzimas hidrolíticas generadas en un digestor, sólo sería recomendable en aquellas instalaciones que disponen de un sistema de digestión aerobia. Por este motivo, en este capítulo no se realiza una estimación de los costes de implantación de la misma. No obstante, en el caso de que se tuviera en proyecto la construcción de la línea de fangos de una EDAR de nueva construcción, sería interesante aplicar la digestión aerobia de fangos y recircular los productos extracelulares de la digestión al tanque de aireación.

IV.6.2. Criterios técnicos y ambientales aplicables a la selección de la estrategia de reducción

A parte de la viabilidad económica del proyecto, a la hora de seleccionar una de las estrategias para la reducción de lodos de depuradora es necesario tener en cuenta otros criterios de carácter técnico y ambiental.

278

La facilidad de operación, la complejidad de las tareas de mantenimiento o las hora/operario asociadas a cada una de las estrategias, son algunos de los aspectos técnicos que deberían considerarse a la hora de seleccionar una de ellas para su implantación en una EDAR a escala industrial. La reducción de la cantidad de fangos producidos en la EDAR también supondría una mejora en la propia operatividad de las instalaciones.

Asimismo, una EDAR implica un impacto ambiental debido al consumo de energía, la utilización de productos químicos, la emisión de determinados gases a la atmósfera y la producción de los lodos residuales, que según su destino tendrán unas consecuencias ambientales. Por ejemplo, la deposición de estos residuos en vertederos conlleva a la emisión de gases a la atmósfera y lixiviados que deben tratarse; la incineración puede suponer un foco de contaminación atmosférica; el propio transporte por carretera de los lodos a las estaciones de tratamiento (planta de compostaje, incineradora, vertedero) supone la emisión de CO₂; etc. Por este motivo, la menor producción de fangos residuales tendría numerosos beneficios de carácter ambiental. Estos beneficios, una vez cuantificados, podrían superar el coste de inversión y explotación asociado a las propias estrategias que han sido descritos en el apartado anterior. No obstante, la valoración económica de los beneficios ambientales, al igual que la de los impactos, es una actividad compleja, que no ha sido abordada en este trabajo.

La Tabla IV.41 recoge algunos de los criterios técnicos y ambientales que podrían ser aplicados en la valoración de las estrategias de reducción de fangos estudiadas.

Tabla IV.41. Aspectos técnico-ambientales para evaluación de alternativas

	Dosificación de TCS en continuo	Esquema de tratamiento OSA	Adición de enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares
Reducción de fangos secundarios máxima observada (purga de fangos)	35%	60%	30%
Reducción de fangos totales (1 ^{os} + 2 ^{os})	14%	24%	12%
Infraestructura y equipamiento auxiliar	<ul style="list-style-type: none"> Requiere bomba de dosificación. Depósito de almacenamiento del reactivo. 	<ul style="list-style-type: none"> Construcción de tanque de retención anóxico en la línea de recirculación garantizando un THR mínimo de 6 horas. O, conversión de tanque de aireación en tanque de retención anóxica para la recirculación de fangos. 	<ul style="list-style-type: none"> Sistema de digestión biológica de fangos y unidad de espesamiento (en estaciones sin línea de tratamiento de lodos). Bombeo al tanque de aireación o cabecera de planta.
Reactivos	TCS en una concentración en torno a 0,5-1 mg/l considerando el volumen de reactor.	No requiere	No requiere
Uso de energía	<ul style="list-style-type: none"> Consumo de energía asociado a bomba dosificadora. Necesidad de incrementar la aireación del sistema por aumento de la tasa de respiración. 	<ul style="list-style-type: none"> Sistemas de agitación para la homogeneización de la cámara anóxica. Necesidad de incrementar la aireación del sistema por aumento de la tasa de respiración. 	Necesidad de incrementar la aireación del sistema por aumento de la tasa de respiración.
Impacto ambiental	Ecotoxicidad asociada al TCS. Bioacumulación y biomagnificación (?)	<ul style="list-style-type: none"> Posibilidad de generación de gases de efecto invernadero en el tanque anóxico (aunque la producción de biogas es baja). Posibilidad de generación de malos olores 	No identificado
Seguimiento y control	<ul style="list-style-type: none"> Control rutinario (inspección de sistema de dosificación del TCS). No requiere mano de obra especializada. 	<ul style="list-style-type: none"> Control rutinario + específico para garantizar las condiciones de ausencia de O₂ en el tanque de retención. Requiere mano de obra especializada 	<ul style="list-style-type: none"> Control rutinario. Requiere mano de obra especializada.
Producto final	La adición del TCS podría interferir los usos finales del fango tratado.	<ul style="list-style-type: none"> Fango adecuado para usos posteriores. Gases generados en condiciones de anoxia. 	Fango adecuado para usos posteriores.
Comentarios	Al no requerir obra civil de envergadura es aplicable a instalaciones sin capacidad de aumentar la superficie ocupada.	<ul style="list-style-type: none"> La construcción de la cámara anóxica puede suponer un considerable coste de inversión. Para el bombeo de los fangos al tanque de retención se podrían emplear las mismas bombas de recirculación. Puede requerir línea de tratamiento de gases o sistemas de desodorización. 	<ul style="list-style-type: none"> El fango presenta una mejor capacidad de sedimentación. Sólo es aplicable en estaciones que disponen de línea de digestión de fangos. Podría considerarse el procesamiento del sobrenadante de la digestión para obtener un producto rico en exoenzimas y otros EPS eliminando posibles interferencias.

IV.6.3. Conclusiones

En este apartado se ha realizado una valoración económica-técnico-ambiental de cada una de las estrategias para la reducción de la producción de fangos que han sido objeto de estudio en el presente trabajo de investigación.

Como se ha podido comprobar, la aplicación de las estrategias en una planta real reduciría de la cantidad fangos que requieren un tratamiento posterior, con el consecuente ahorro en los costes derivados de su gestión. En función de la estrategia aplicada y del tratamiento final de los fangos generados el ahorro puede ir desde 70.000 €/año hasta más de 400.000 €/año.

Si se analiza en detalle cada una de las estrategias de reducción de fangos aplicadas en este estudio, se observa que no todas ellas son viables e idóneas en todas las situaciones:

- La aplicación del TCS ha resultado ser una alternativa cara al tratamiento de los fangos en exceso generados en una EDAR. El coste de adquisición de los reactivos hace prácticamente inviable la aplicación diaria de este reactivo, al menos en las condiciones ensayadas en este estudio, tal y como se ha comentado anteriormente.

Desde el punto de vista operativo, sería la estrategia que menos alteraría la explotación de la EDAR, ya no requeriría la construcción de nuevos reactores o unidades de tratamiento ni tampoco supondría cambios en el seguimiento y control del sistema. Como ha quedado recogido en la Tabla IV.41, la adición del TCS no requeriría mano de obra especializada y sólo supondría la adquisición de un dispositivo de almacenamiento del reactivo.

Desde el punto de vista ambiental, la adición diaria del TCS sería la estrategia que más riesgo de impacto presenta sobre el medio ambiente. Este riesgo está íntimamente ligado al desconocimiento existente sobre la toxicidad y ecotoxicidad del compuesto. Tampoco se conoce si el TCS lleva asociado fenómenos de bioacumulación y biomagnificación. Asimismo, la presencia del TCS en el efluente final podría interferir en la reutilización de las aguas depuradas aunque esta sustancia no está considerada en el Real Decreto 1620/2007 ni tampoco en el listado de sustancias prioritarias (Directiva 60/2000/CE). De igual manera, la acumulación del TCS en el fango podría repercutir negativamente sobre el destino final de los mismos pudiendo poner en riesgo la valorización agrícola.

- La inclusión de un tanque de retención anóxico en la línea de recirculación de fangos supondría un importante ahorro en la gestión y explotación de las EDAR, si se alcanzaran los rendimientos de reducción de fangos obtenidos en el presente estudio. De esta forma se convertiría igualmente en la estrategia más viable desde el punto de vista económico ya que la implantación de la misma tendría un periodo de amortización pequeño (2-8 años) siempre y cuando el destino final de los lodos requiriera de algún tipo de tratamiento de valorización (compostaje, incineración, etc.).

Sólo en el caso de que el destino final fuese el vertedero, el periodo de amortización aumentaría considerablemente. No obstante, el vertido controlado de estos residuos es una opción de tratamiento no fomentada por la legislación comunitaria y española, y en el futuro incluso podría estar prohibida.

En cuanto a la viabilidad técnica, la implantación del esquema de tratamiento OSA conllevaría una remodelación de las instalaciones bien por la construcción del tanque de anoxia o bien por la adaptación de las instalaciones existentes. A fin de mantener las condiciones de anoxia dentro de la cámara, la explotación de la misma resultaría más compleja y se requeriría un mayor control del sistema e incluso mano de obra especializada. En ningún caso la explotación del tanque de retención llevaría asociada la complejidad de un reactor anaerobio estricto.

Desde el punto de vista ambiental, sólo se han identificado dos impactos potenciales: la generación de gases de efecto invernadero (si se dieran condiciones de anaerobiosis y no anoxia en el tanque de retención) y malos olores. En cualquier caso, se podrían incluir medidas correctivas como sistemas de desodorización o de recuperación de gases que encarecerían el presupuesto de aplicación. En cuanto al producto final obtenido no se vería afectado por la presencia del tanque de retención en la línea de recirculación por lo que los usos posteriores de este fango no se verían comprometidos. Asimismo, al no existir adición de reactivos químicos, se podría reutilizar el efluente final obtenido.

- La adición de las enzimas hidrolíticas y otros productos extracelulares generados en la digestión aerobia de fangos es la estrategia que menor porcentaje de reducción de fangos ha reportado y, por tanto, la que lleva asociado menor ahorro en la gestión de fangos. Como se ha comentado a lo largo del capítulo, esta estrategia sólo tiene sentido en aquellas instalaciones que disponen de un sistema de digestión aerobia de fangos, por lo que su aplicación no conllevaría la ejecución de nuevas infraestructuras ni la adquisición de equipamiento auxiliar. También es aplicable en aquellas EDAR que tiene proyectada una línea de tratamiento de fangos con digestión aerobia.

En cuanto a la explotación de las instalaciones sería la más compleja de todas las opciones estudiadas ya que conllevaría el control de toda la línea de tratamiento de fangos. Sin embargo, la obtención del sobrenadante en sí (en un clarificador o en la etapa de deshidratación) y el bombeo del mismo a cabecera de planta o al reactor biológico, no entrañaría una gran complejidad y el control de estas operaciones podría simplificarse a una inspección rutinaria.

Al igual que en el esquema de tratamiento OSA, esta estrategia no supondría riesgo potencial para el medio ambiente y el producto final podría ser empleado para usos agrícolas o de cualquier otro tipo. A diferencia de la estrategia anterior, no existirían problemas de malos olores (si el digestor aerobio está bien operado) y no se requeriría un sistema de captación de gases.

Para incrementar el grado de solubilización de los fangos a través de las enzimas hidrolíticas podría resultar de interés el procesamiento y purificación del sobrenadante obtenido en la digestión aerobia, aspecto que no se ha contemplado en este trabajo de investigación. En tal caso, habría que diseñar un dispositivo o metodología para concentrar las enzimas y otros productos extracelulares de interés y calcular su viabilidad técnico-económica.

Capítulo V.

Conclusiones

En la revisión bibliográfica realizada como punto de partida de este trabajo de investigación, se ha puesto de manifiesto que la generación de lodos de depuradoras es, hoy en día, uno de los problemas ambientales más importantes, tanto a nivel nacional como a nivel europeo, debido al notable incremento en su producción en las estaciones de tratamiento de aguas residuales y al cada vez más regulado y restringido destino final de los mismos.

Hasta el momento, las actividades de investigación e innovación han estado dirigidas hacia la optimización de los tratamientos de los lodos de depuradora. En esta tesis doctoral se ha propuesto un cambio de filosofía en la gestión de estos residuos, apostando por la prevención y la reducción en origen. En este sentido, se ha comprobado que existen una amplia variedad de estrategias para minimizar la producción de lodos de depuradora basadas en principios físicos, químicos y/o biológicos. No obstante, los trabajos previos realizados en el ámbito de este estudio se han centrado en conocer el fundamento de cada una de las estrategias pero han obviado el efecto de las mismas sobre el normal funcionamiento de las instalaciones de depuración. Por ello, en este trabajo se ha pretendido conocer el efecto global de varias estrategias de reducción de fangos sobre el sistema de lodos activos.

De la discusión de los resultados expuestos a lo largo de la presente memoria se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1. En la puesta en marcha del sistema de lodos activos a escala de laboratorio, se produce una sucesión de poblaciones típica y común a cualquier sistema biológico de depuración. Los cambios en las condiciones de operación del sistema piloto donde se ha llevado a cabo la fase experimental de este estudio, se traducen en variaciones de la comunidad microbiana que, a su vez, se identifican a través de la presencia o ausencia de poblaciones bioindicadoras. El control de la composición de la comunidad microbiana resulta de especial interés para combatir fenómenos no deseados como el *bulking filamentoso*, y garantizar un efluente con una elevada calidad.
2. Independientemente del carácter del agua empleada como alimentación, residual urbana o sintética, se ha comprobado que el sistema piloto empleado se desestabiliza cuando los tiempos hidráulicos de residencia en el tanque de aireación se establecen entorno a las 5 horas. Esta inestabilidad ha estado marcada por la proliferación masiva de organismos filamentosos y la pérdida de calidad del fango. En este estudio se ha

comprobado que para evitar el *bloom* de organismos filamentosos en el sistema de lodos activos a escala de laboratorio, es necesario mantener el cociente $Q_{\text{recirculación}}/Q_{\text{alimentación}}$ por encima de la unidad.

3. Se ha comprobado que la tasa de purga de fangos se incrementa cuando aumenta la carga orgánica aplicada a los sistemas biológicos de depuración. Este comportamiento ha sido demostrado a nivel de planta piloto a escala de laboratorio, tanto cuando se emplea agua residual urbana real para su mantenimiento como cuando la alimentación es de carácter sintético.
4. De los diferentes agentes desacopladores del metabolismo celular analizados en los ensayos en discontinuo, el TCS es el que presenta los resultados más satisfactorios, al conseguir reducir la tasa de crecimiento bacteriano en un mayor porcentaje (32%) y a una menor dosis (0,8 mg/l). Igualmente, se ha observado que el zinc puede producir un efecto similar pero requiere mayores dosis (10 mg/l), existiendo un alto riesgo de alcanzar concentraciones tóxicas que producen la inhibición del metabolismo celular en general. Por el contrario, el cobre y el dinitrofenol no han reportado los resultados esperados.
5. La adición diaria del TCS sobre un sistema de lodos activos a escala de laboratorio en una concentración 0,5-1 mg/l, ha permitido reducir la cantidad de fangos purgados del sistema en un 20-35%, dependiendo de las condiciones de operación, no viéndose afectado el rendimiento del proceso. No obstante, la dosificación del TCS en un sistema a escala industrial puede resultar inviable desde el punto de vista económico, restringiendo su uso en aquellos casos en los que no sea posible implantar alguna de las otras estrategias de reducción de fangos estudiadas. Asimismo, la aplicación del TCS en una planta biológica de depuración requiere de estudios previos de toxicidad y ecotoxicidad del agente desacoplador, aspectos que son desconocidos por el momento, y de la calidad del producto obtenido y las posibles interferencias en su destino final (aplicación en agricultura, por ejemplo).
6. La inclusión de una cámara de retención anóxica en la línea de recirculación de fangos permite reducir hasta en un 60% la cantidad de fangos eliminados del sistema lodos activos a escala de laboratorio. Al igual que el TCS, la combinación de condiciones aerobias y anóxicas permite desacoplar el metabolismo celular y reducir la tasa de crecimiento celular de los fangos activos, sin perturbar el normal funcionamiento del sistema. La reducción en la cantidad de fangos secundarios eliminados puede suponer un importante ahorro en la gestión y tratamiento posterior de los mismos, de manera que la adaptación de las instalaciones al esquema de tratamiento propuesto sería amortizable en un periodo no superior a los 8 años (siempre que el destino final no sea el vertido controlado).
7. La adición de las enzimas hidrolíticas y otros compuestos extracelulares generados en un digestor aerobio de fangos sobre un sistema de lodos activos permite reducir la

purga de fangos en un 30%. A diferencia de las otras estrategias aplicadas en este estudio, este proceso no se basa en el desacoplamiento del metabolismo celular sino en la solubilización del fango y de la materia orgánica particulada y coloidal. Además, la presencia de exopolímeros en el licor resultante de la digestión, aumenta la capacidad de sedimentación de los fangos en el decantador secundario, mejorando el funcionamiento del sistema y permitiendo alcanzar rendimientos de depuración superiores al 90%. No obstante, la aplicación de esta estrategia se limita a aquellas instalaciones que dispongan de un sistema de digestión aerobia de fangos.

8. Ninguna de las tres estrategias de reducción de fangos estudiadas provoca la alteración de la composición y funcionamiento normal de la comunidad microbiana presente en el sistema de lodos activos a escala de laboratorio. Incluso para el esquema de tratamiento OSA y la adición de enzimas hidrolíticas, se observa un aumento en la cantidad de células viables en el fango. Asimismo, en todos los casos estudiados se ha observado un incremento en la tasa de respiración del fango, que se traduce en un incremento de la demanda de oxígeno en las cubas de aireación.
9. Las estrategias aplicadas en este estudio, así como las desarrolladas por otros autores, permiten reducir la tasa de purga de lodos del sistema biológico de depuración pero no ejercen ningún efecto sobre los fangos primarios generados en una EDAR. Por ello, la cantidad total de fangos residuales que se obtendría en una instalación real de tratamiento al aplicar las estrategias descritas, no se reduciría en los porcentajes obtenidos sino en menor medida, como ha sido comprobado en capítulo IV.6 de la presente memoria.
10. En relación al punto anterior, los porcentajes de fangos primarios y secundarios en el lodo final a gestionar en una EDAR, se verían alterados al aplicar las estrategias de reducción, aumentando la proporción de primarios y pudiendo interferir en el tratamiento posterior de los mismos y la calidad del fango final obtenido.
11. A la hora de seleccionar la estrategia de reducción a implantar no sólo deben tenerse en cuenta los aspectos económicos sino incorporar criterios de carácter técnico y ambiental. La reducción de la cantidad de lodos que requieren de un tratamiento posterior supone en sí misma un importante beneficio ambiental, aunque su valoración económica resulta compleja.

En base a los resultados obtenidos en los ensayos desarrollados a escala de laboratorio y, teniendo en cuenta los costes estimados de aplicación así como los criterios técnicos y ambientales valorados, la estrategia que *a priori* sería aconsejable implantar a escala industrial es el esquema de tratamiento OSA. No obstante, no se debe descartar la aplicación de las otras dos estrategias descritas en esta memoria, ni las propuestas por otros autores ya que, en función de las circunstancias y condicionantes particulares de cada EDAR, éstas pueden resultar más adecuadas que el proceso OSA.

En cualquier caso, previamente a la implantación de las estrategias a escala industrial, se estima necesario el desarrollo de ensayos a una escala semi-industrial, bajo condiciones cercanas a la realidad para, de esta forma, garantizar resultados satisfactorios y evitar problemas en la operación del sistema.

Referencias bibliográficas

- Antonietti R., Broglio P. y Madoni P. (1982). “Valutazione di parametri biologici come indici di efficienza di depurazione in impianti a fanghi attivi”. *Ingegneria Ambientale*, 11: 472-477.
- APHA; AWWA; WPCF (1992). “Métodos Normalizados para el análisis de aguas potables y residuales”. Editorial Díaz Santos, S.A., 17ª Edición
- Awong, J., Bitton, G. y Koopman B. (1985). “ATP, Oxygen Uptake Rate and INT'-deshidrogenase activity of actinomycete foams”. *Water Research*, Vol. 17, N° 35: 4208-4216.
- Baier U. y Schmidheiny P. (1997). “Enhanced anaerobic degradation of mechanically disintegrated sludge”. *Water Science Technology* 36(11):137–43. 1997.
- Banks C.J., Davies M., Walker Y. y Ward R.D. (1976). “Biological and physical characterization of activated sludge: a comparative experimental study at ten treatment plant”. *Water Pollution Control*, 75, 492-508.
- Barjenbruch M., Hoffmann H., y Tranker J. (1999). “Minimizing of foaming in digesters by pre-treatment of the surplus sludge”. *Water Science Technology*; 42(9):235–42.
- Barker D.J. y Stuckey D.C. (1999). “A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems”. *Water Research*; 33(14):3063–82.
- Bitton G. (1994). “Wastewater Microbiology”. New York: Wiley-Liss.
- Budavari S. (1989). “The Merk Index”. Rahway. New York.
- Burgess J.E. y Pletschke B.I. (2008). “Hydrolytic enzymes in sewage sludge treatment: A mini-review”. *Water S.A.*, vol. 34 (3), pp. 343-349
- Caballero J.A., Front R., Marcilla A. y Conesa J.A. (1997), “Characterisation of sewage sludges by primary and secondary pyrolysis”. *J. Anal. and Applied Pyrolysis*, 4041, 433-450

- Cabrero A., Fernandez S., Miranda F. y Garcia J. (1998). "Effects of copper and zinc on the activated sludge bacteria growth kinetics". Water Research Vol. 32 N°5: 1355-1362.
- Cadoret A., Conrad A. y Block J-C. (2002). "Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges". Enzyme and Microbial Technology. 31179-186.
- Camacho P., Geaugey V., Ginestet P. y Paul E. (2002). "Feasibility study of mechanically disintegrated sludge and recycle in the activated-sludge process". Water Science Technology; 46(10):97-104.
- Capdeville B. y Nguyen K.M. (1990). "Kinetics and modeling of aerobic and anaerobic film growth". Water Science Technology; 22(1/2):149-70.
- Carrington E. G. (2001). WRc REPORT CO 5026/1 for the European Commission "Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction"
- Cazurra T., Jurado J.L y Pueyo J.M. (1999). "Secado térmico de fangos de estación depuradora de aguas residuales". Tecnología del agua. N° 184, pags. 31-37.
- Chen G-H., Mo H.K., Saby S., Yip W.K. y Lui Y. (2000). "Minimization of activated sludge production by chemically stimulated energy spilling". Water Science Technology 42 (12):189-200.
- Chen G-H., An K-J., Saby S., Brois E. y Djafer M. (2003). "Possible cause of excess sludge reduction in an oxic-settling-anaerobic activated sludge process (OSA process)". Water Research 37, 3855-3866.
- Chen G-H., Mo H.K., Saby S. y Lui Y. (2002). "Utilization of a metabolic uncoupler, 3,3',4',5-tetrachlorosalicylanilide (TCS) to reduce sludge growth in activated sludge culture". Water Research; 36:2077-2083.
- Chen G.W., Yu H.Q. y Xi P.G. (2006). "Influence of 2,4 -dinitrophenol on the characteristics of activated sludge in batch reactors". Bioresource Technology 98, 729-733.
- Chen G.W., Yu H.Q., Xi P.G. y Xu D-Q. (2008). "Modeling the yield of activated sludge in the presence of 2,4-dinitrophenol". Biochemical Engineering Journal 40, 150-156.
- Chiu Y.C., Chang C.N., Lin J.G. y Huang S.J. (1997). "Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion". Water Science Technology; 36(11):155-62.

- Chu C.P., Chang B.V., Liao G.S., Jean D.S. y Lee D.J. (2001). "Observation on changes in ultrasonically treated waste-activated sludge". *Water Research*; 35(4): 1038–46.
- Chu C.P., Feng W.C., Chang B.V., Chou C.H. y Lee D.J. (1999). "Reduction of microbial density level in wastewater activated sludge via freezing and thawing". *Water Research*; 33(16):3532–5.
- Chudoba P., Chudoba J. y Capdeville B. (1992 a). "The aspect of energetic uncoupling of microbial growth in the activated sludge process: OSA system". *Water Science Technology* 26(9-11):2477–80.
- Chudoba P., Morel A. y Capdeville B. (1992 b). "The case of both energetic uncoupling and metabolic selection of microorganisms in the OSA activated sludge system". *Environmental Technology*; 13:761–70.
- Coello M^a.D. (1998). "Utilización de medidas de actividad para el control de la actividad microbiana del tratamiento biológico de una estación depuradora de aguas residuales.". Tesis doctoral. Universidad de Cádiz.
- Cook M. y Russell B. (1994). "Energy spilling reactions of *Streptococcus bovis* and resistance of its membrane to proton conductance". *Applied Environment Microbiology* 60:1942-1948.
- Cooke P.F. y Pipes W.O. (1968). "The occurrence of the fungi in activated sludge". *Proceedings of the 23rd Industrial Waste Conference*, Purdue University. pp 170-82.
- Cooke P.F. y Pipes W.O. (1970). "The occurrence of fungi in activated sludge". *Mycophatologia et Mycologia Applicata*, 40, 249-70.
- Curds C.R. (1975). "Protozoa". *Ecological aspects of used water treatment*, Vol I. The organism and their ecology . pp 203-68.
- Curds C.R. (1969). "An illustrated key to the British freshwater ciliated protozoa commonly found in activated sludge". H.M.S.O, 1969
- Curds C.R. y Cockburn A. (1968). "Studies on the growth and feeding of *Tetrahymena pyriformis* in axenic and monoxenic culture". *Journal of General Microbiology*. 54(3):343-58.
- Davis, R. (2002). "Draft Guide to the use of thermally dried sludge products". Publicación del (CEN / TC 308 / WG 2 N 335).
- De Castro, J. (2002). "Secado térmico de fangos". *Jornada sobre Gestión de Lodos de Depuradora*, Instituto para la Sostenibilidad de los Recursos ISRcer, Sevilla.

- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A. y Smith F. (1956). “Colorimetric method for determination of sugars and related substances”. *Analytical Chemistry* 29, pp. 350–356.
- Dytczak M.A., Londry K.L., Siegrist H. y Oleszkiewicz J.A. (2007). “Ozonation reduces sludge production and improves denitrification”. *Water Research* Vol. 41: 543-550.
- EEA (European Environment Agency) (1997), “Sludge Treatment and Disposal: Management Approaches and Experiences”, ISWA’s Working Group on Sewage & Waterworks Sludge. Environmental Issues Series n°7. Copenhagen, Dinamarca.
- Elissen H.J.H., Hendrickx T.L.G., Temmink H. y Buisman C.J.N. (2006). “A new reactor concept for sludge reduction using aquatic worms”. *Water Research* 40, pp. 3713–3718
- European Commission (2001), “Disposal and Recycling Routes for Sewage Sludge”. Scientific and technical sub-component report. DG Environment – B/2
- Fontvieille D.A., Outaguerouine A. y Thevenot D.R.. (1992). “Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of microbial activity in aquatic systems: application to activated sludges”. *Environmental Technology*, 13, pp. 531–540.
- Frølund B., Griebe T. y Nielsen P.H. (1995). “Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix”. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 43755-761.
- Galdós Aller, J. (2001). "Secado térmico y cogeneración: Perspectivas". XXI Jornadas Técnicas de la AEAS.
- Garralón, G. (2003). “Valorización energética de biosólidos”. Seminario sobre producción y gestión de lodos de depuradora. Aguas de Barcelona “Agbar”. Barcelona.
- Garrido, A., Canals, M., Ramírez, J. y Castanedo, C. (1988). “Seguimiento práctico por microscopía de la formación de flóculos de fango activo en la puesta en marcha de una depuradora de aguas residuales”. *Tecnología del Agua* 48, 35-44.
- Gessesse A., Ducholm T., Petersen S.B. y Nielsen P.H. (2003). “Lipase and protease extraction from activated sludge”. *Water Research* 37, pp. 3652-3657
- Glynn Henry J. y Heinke G.W. (1999). “Ingeniería Ambiental”. Preentice Hall.
- Goel R., Mino T., Satoh H. y Matsuo T. (1998a). “Comparison of hydrolytic enzyme systems in pure culture and activated sludge under different electron acceptor conditions”. *Water Science and Technology* 37 (4-5), pp. 335-343.

- Goel R., Mino T., Satoh H. y Matsuo T. (1998b). "Enzyme activities under anaerobic and aerobic conditions in activated sludge sequencing batch reactor". *Water Research*. 32 (7), pp. 2081-2088
- González Rodríguez, J.L. (2001). "Plantas de secado térmico de lodos de depuradora (EDAR)". *Retema: Revista técnica de medio ambiente*, Año nº 14, Nº 80, pags. 37-44.
- Gray N.F. (1989). "Biology Wastewater treatment". Oxford Science Publications.
- Griebe T., Schaule G. y Wuertz S. (1997). "Determination of microbial respiratory and redox activity in activated sludge". *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 19, 118-122
- Guellil A., Boualam M., Quiquampoix H., Ginestet P., Audic J.M., y Block J.C. (2001). "Hydrolysis of wastewater colloidal organic matter by extra-cellular enzymes extracted from activated sludge flocs". *Water Science Technology*;43(6):33-40.
- Ghyoot W. y Verstraete W. (1999). "Reduced sludge production in a two-stage membrane-assisted bioreactor". *Water Research*. 34 (1), pp. 205-215.
- Henze M., Grady C.P.L., Gujer W., Marais G.v.R. y Matsuo T. (1987). "Activated sludge model No1". IAWPRC Scientific and Technical Report no 1. IAWQ, London, UK.
- Hernández Muñoz, Aurelio (2001). "Depuración y Desinfección de Aguas Residuales"(5ª Edición). Colegio de Ingenieros de Caminos, Canales y Puertos. Colección Senior nº 9.
- Higuchi Y., Ohashi A., Imachi H. y Harada H. (2005) "Hydrolytic activity of alpha-amylase in anaerobic digested sludge". *Water Science and Technology* 52 (1-2) 259-266.
- Hopwood S.R. y Downing A.L. (1965). "Factor affecting the rple production and properties of activated sludge in plants treatin domestic sewage." *Journal and Proccedings of the Institute of Sewage Purification*, **64**, 435-52.
- Horan NJ. (1999). "Biological Wastewater Treatment Systems". Chichester, UK: Wiley.
- IEA CADDET (1998), "Advanced Thermal Conversion Technologies for Energy from Solid Waste", IEA CADDET Centre for Renewable Energy. Oxfordshire. UK
- Ingraham, J.L. y C.A. Ingraham. (1998). "Introducción a la Microbiología". 2 vols. Editorial Reverté, S.A. Barcelona.

- Jefferson B., Burgess J.E., Pichon A., Harkness J y Judd S.J. (2001). “Nutrient addition to enhance biological treatment of greywater”. *Water Research* Volume 35, Issue 11, Pages 2702-2710,
- Jenkins D., Richard M. G. y Daigger G. T. (1993). “Manual on the Causes and Control of Activated Sludng and Foaming”, Lewis Publishers 2nd Edition
- Kamiya T. y Hirotsuji J. (1998). “New combined system of biological process and intermittent ozonation for advanced wastewater treatment”. *Water Science Technology* 38 8–9, pp. 145–153.
- Kepp U., Machenbach I., Weisz N. y Solheim OE. (1999). “Enhanced stabilisation of sewage sludge through thermal hydrolysis— three years of experience with a full scale plant”. *Water Science Technology*; 42(9):89–96.
- Kim Y-K., Bae J-H., Oh B-K., Lee W.H. y Choi J-W. (20029). “Enhancement of proteolytic enzyme activity excreted from *Bacillus stearotherophilus* for a thermophilic aerobic digestion process”. *Bioresource Technology*, 82 (2), pp. 157-164
- Kopp J., Muller J., Dichtl N. y Schwedes J. (1997). “Anaerobic digestion and dewatering characteristics of mechanically disintegrated excess sludge”. *Water Science Technology*; 36(11):129–36.
- Leal M.C.M.R., Freire D.M.G., Cammarota M.C. y Sant’anna (Jr) G.L. (2006). “Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater”. *Process Biochemistry*, 41 (5). pp. 1173-1178.
- Lee N.M. y Welander T. (1996). “Use of protozoa and metazoa for decreasing sludge production in aerobic wastewater treatment”. *Biotechnology Letters*; 18(4):429–34.
- Lehninger A.L. (1975). “Biochemistry”. New York: Worth.
- Liang P., Huang X. y Qian Y. (2006). “Excess sludge in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*.”. *Biochemical Engineering Journal* 28, 117-122.
- Liu Yu. (2000). “Effect of chemical uncoupler on the observed growth yield in batch culture of activated sludge”. *Water Research*, Vol. 34 N°7: 2025-2030.
- Liu Yu. (2003). “Chemically reduced excess sludge production in the activated sludge process”. *Chemosphere* 50:1-7.
- Lora y Miró. (1978). “Técnicas de defensa del medio ambiente”. Tomo II. Ed. Labor. Barcelona.

- Low E.W. y Chase H.A. (1998). "The use of chemical uncouplers for reducing biomass production during biodegradation". *Water Science and Technology*. 37:399-402.
- Low E.W. y Chase H.A. (1999). "Reducing production of excess biomass during wastewater treatment". *Water Research* 33, 1119-1132.
- Lowry O. H., Rosembrough N. J., Farr A. L. y Randall R. J. (1951). "Protein measurement with Folin phenol reagent". *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275
- Madoni, P. y Ghetti, P. F. (1981). "The structure of ciliated protozoa communities in biological sewage-treatment plants". *Hidrobiología* 83, 207-215.
- Mahamud, M. (2000) "Problemática de los lodos de depuradora", capítulo XIV en "Residuos industriales y suelos contaminados" Ed. Elena Marañón Maison. Servicio de publicaciones de la Universidad de Oviedo.
- Martín I., Betancort J.R., Salas J.J., Peñate B., Pidre J.R y Sardón N. (2006). "Guía sobre tratamientos de aguas residuales urbanas para pequeños núcleos de población. Proyecto Icrew". Edición: Instituto Tecnológico de Canarias (ITC).
- Mas M. y Vasco J. (2008). "Reducción de la producción de fangos debida a la modificación de las comunidades de microorganismos en sistemas de fangos activos". *Tecnología del agua*, Año nº 28, Nº 292, pags. 28-37.
- Mason C.A., Hamer G., Bryers J.D. (1986). "The death and lysis of microorganism in environmental process". *FEMS Microbiology Reviews*; 39:373-401.
- Mayhew M. y Stephenson T. (1998). "Biomass yield reduction: is biochemical manipulation possible without affecting activated sludge process efficiency?". *Water Science and Technology* Vol. 38 nº 8-9: 137-144.
- Mitchell P. (1961). "Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism". *Nature* 191: 144-148.
- Miyazato N., Yamamoto-Ikemoto R. y Takamatsu S. (2006). "Microbial community change of sulfate reduction and sulfur oxidation bacteria in the activated sludge cultivated with acetate and peptone". *Water Science & Technology* Vol 54 No 8 pp 111-119
- Moro, P. y Fernández-Leborans, G. (1988). "Aparición de micrororganismos filamentosos en fangos activos". *Ingeniería Química*, Junio 1988, 97-106.
- Neijssel O.M. (1977). "The effect of of 2,4-dinitrophenol on the growth of *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 in aerobic chemostat cultures". *FEMS Microbiology Lett.* 1:47-50.

- Neyens E., Baeyens J., Weemaes M. y De heyder B. (2003 a). “Pilot-scale peroxidation (H_2O_2) of sewage sludge”. *Journal of Hazardous Mater* 98(1–3):91–106.
- Neyens E., Baeyens J., Weemaes M. y De heyder B. (2003b). “Hot acid hydrolysis as a potential treatment of thickened sewage sludge”. *Journal of Hazardous Materials*; 98(1–3):275–93.
- Neyens E., Baeyens J., Weemaes M. y De heyder B. (2003c). “Alkaline thermal sludge hydrolysis”. *Journal Hazardous Materials*; 97(1–3):295–314.
- Nybroe O., Jørgensen P.E. y Henze M. (1992). “Enzyme activities in waste water and activated sludge”. *Water Research* 26 (5) 579-584.
- Nolasco MA., Campos ALO., Springer AM. y Pires EC. (2002). “Use of lysis and recycle to control excess sludge production in activated sludge treatment: bench scale study and effect of chlorinated organic compounds”. *Water Science Technology*; 46(10):55–61.
- Novak J.T., Sadler M.E. y Murthy S.N. (2003). “Mechanisms of floc destruction during anaerobic and aerobic digestion and the effect on conditioning and dewatering of biosolids”. *Water Research*. 37(13) 3136-3144.
- Onyeche TI., Schlafer O., Bormann H., Schroder C. y Sievers M. (2002). “Ultrasonic cell disruption of stablised sludge with subsequent anaerobic digestion”. *Ultrasonics*; 40(1–8):31–5.
- Ortega Basagoiti, J.L (2002). "Alternativas técnicas y de gestión para las plantas de secado térmico de lodos con cogeneración". JORNADAS IQPC sobre "Gestión de lodos de depuradora de aguas residuales".
- Pamukoglu M.Y y Kargi F. (2007). “Mathematical modeling of copper (II) ion inhibition on COD removal in an activated sludge unit”. *Journal of Hazardous Materials* 146, 372-377.
- Parody D.F. (1997). “Microorganismos filamentosos. Microorganismos filamentosos en el fango activado”. EMASESA. Ayuntamiento de Sevilla, pp.23-95.
- Perdices, V. et al (1999) "Alternativas de tratamiento y disposición final de lodos y grasas de las estaciones depuradoras de aguas residuales de la Comunidad de Madrid". Estudio realizado por SERVICIOS OMICRON para el CANAL DE ISABEL II.
- Permuy Vila, D. (2002). "El secado térmico de fangos". JORNADAS IFAES sobre "Técnicas de tratamiento de lodos en estaciones de aguas residuales".
- Pike E. B. y Curds C. R. (1971). “Microbial ecology of the activated sludge process”. *Microbial Aspects of pollution*, 123-47.

- Ramalho R.S. (1996). “Tratamiento de las aguas residuales”. Editorial Reverté.
- Ratsak C.H., Kooi B.W. y van Verseveld H.W. (1994). “Biomass reduction and mineralization increase due to ciliate *Tetrahymena pyriformis* grazing on the bacterium *Pseudomonas fluorescens*”. *Water Science Technology*; 29(7):119–28.
- Ratsak C.H. (2001). “Effects of *Nais elinguis* on the performance of an activated sludge plant”. *Hydrobiologia* 463, pp. 217–222.
- Rensink J.H. y Rulkens W.H. (1997). “Using metazoa to reduce sludge production”. *Water Science and Technology* 36 11, pp. 171–179.
- Rodriguez G.G., Phipps D., Ishiguro K. y Ridgway H.F. (1992). “Use of a fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria”. *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 1801-1808.
- Rocher M., Goma G., Begue A.P., Louvel L. y Rols J.L. (1999). “Towards a reduction in excess sludge production in activated sludge processes: biomass physicochemical treatment and biodegradation”. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 51(6):883–90.
- Rocher M., Roux G., Goma G., Pilas Begue A., Louvel L. y Rols J.L. (2001). “Excess sludge reduction in activated sludge processes by integrating biomass alkaline heat treatment”. *Water Science & Technology* Vol 44 No 2-3 pp 437–444.
- Roques H., Capdeville B., Seropian J.C. y Grigoropoulou H. (1984). “Oxygenation by hydrogen peroxide of the fixed biomass used in biological water treatment”. *Water Research*. 18, pp. 103–110.
- Saby S., Djafer M. y Chen G-H. (2002). “Feasibility of using chlorination step to reduce excess sludge in activated sludge process”. *Water Research* Vol 36. N° 3: 656-666.
- Saby S., Djafer M. y Chen G-H. (2003). “Effect of low ORP in anoxic sludge zone on excess sludge production in oxic-settling-anoxic activated sludge process”. *Water Research*, Volume 37, Issue 1, Pages 11-20.
- Saby S., Sibille I., Mathieu L., Paquin J.L. y Block J.C. (1997). “Influence of water chlorination on the counting of bacteria with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole)”. *Applied and Environmental Microbiology* 63, 1564–1569.
- Saiki Y., Imabayashi S., Iwabuchi C., Kitagawa Y., Okumura Y. y Kawamura H. (1999). “Solubilization of excess activated sludge by self-digestion”. *Water Research*; 33(8):1864–70.

- Saktaywin W., Tsuno H., Nagare H., Soyama T. y Weerapakkaroorn J. (2005). “Advanced sewage treatment process with excess sludge reduction and phosphorus recovery”. *Water Research*, Volume 39, Issue 5, Pages 902-910
- Salvado H., Gracia M.P. y Amigo J.M. (1995). “Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants”. *Water Research*. 29 (4), pp. 1041–1050.
- Salvado H., Palomo A., Mas M., Puigagut J. y Gracia M.d.P. (2004). “Dynamics of nematodes in a high organic loading rotating biological contactors”. *Water Research*. 10, pp. 2571–2578
- Saunamäki R.(1988). “Sludge handling and disposal at Finnish activated sludge plants”. *Water Science and Technology*, 20(1), 171-182
- Sevilla M., Melgarejo J., Gil J. A. y Prats D. (2005). “Gestión de lodos de depuradora. Aspectos económicos”. *Residuos: Revista técnica*, N° 15, N° 87, pages. 88-97
- Song B. y Chen X. (2009). “Effect of *Aeolosoma hemprichi* on excess activated sludge reduction”. *Journal of Hazardous Materials*, Volume 162, Issue 1, 15 February 2009, Pages 300-304
- Stall T.R. y Sherrard J.H. (1976). “Effect of wastewater composition and cell residence time on phosphorus removal in activated sludge”. *Journal Water Pollution Control Federation* 48, pp. 307–322
- Stouthamer A.H. (1979). “Correlation of growth yields”. In: J.R. Quayle, Editor, *Microbial biochemistry, international review of biochemistry* vol. 21, University Park, Baltimore, pp. 1–47.
- Strand S.E., Harem G.N. y Stensel D. (1999). “Activated sludge yield reduction using chemical uncouplers”. *Water Environ. Res.* 71, 454-458.
- Takii S. (1977). “Accumulation of reserve polysaccharide in activated sludge treating carbohydrates wastes”. *Water Research*, 11, 77-83.
- Tanaka S., Kobayashi T., Kamiyama K. y Bildan M.L. (1997). “Effects of thermochemical pre-treatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge”. *Water Science Technology*; 36(8):209–15.
- Tsai S.P. y Lee Y.H. (1990). “A model for energy-sufficient culture”. *Biotechnology Bioengineering* 35: 138-145
- Tchobanoglous G., Burton F.L. y Stensel H.D. (2003). “Wastewater Engineering Treatment and Reuse”. McGraw-Hill, Boston.

- Tchobanoglous G., Theisen H. y Vigil S.A. (1994). “Gestión Integral de Residuos Sólidos”. McGraw-Hill
- Tchobanoglous G. y Burton, F./ Metcalf & Eddy, Inc. (1995). “Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización” (3era Edición). Ed. MacGraw-Hill/Interamericana de España, S.A.U.
- Tiehm A., Nickel K. y Neis U. (1997). “The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge”. *Water Science Technology*; 36(11):121–8.
- Tiehm A., Nickel K., Zellhorn. y Neis U. (2001). “Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization”. *Water Research*;35(8):2003–9.
- Tokumura M., Katoh H., Katoh T., Znad H.T. y Kawase Y. (2008). “Solubilization of excess sludge in activated sludge process using the solar photo-Fenton reaction”. *Journal of Hazardous Materials*. (article in press).
- Tynecka Z., Gos Z. y Zajac J. (1981). “Energy-dependent efflux of cadmium coded by a plasmid resistance determinant in *Staphylococcus aureus*”. *The Journal of Bacteriology*. 147, p. 313.
- Vavilin V.A., Rytov S.V. y Lokshina L.Y. (1996). “A description of hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic matter”. *Bioresource Technology*, 56. pp. 229-237.
- Vilaseca M.M. (2001). “Boletín INTEXTER” (U.P.C.) N° 119.
- Wanner J. (1997). “Microbial population dynamics in biological wastewater treatment plants”. In *Microbial Community Analysis: The Key to the Design of Biological Wastewater Treatment Systems*. Scientific and Technical Report, IAWQ, Inglaterra.
- Watson S.D., Akhurst T., Whiteley C.G., Rose P.D. y Plet-Schke B.I. (2004). “Primary sludge floc degradation is accelerated under biosulphidogenic conditions. Enzymological aspects”. *Enzyme Microbial Technology*, 34, pp. 595-602.
- Weemaes M., Grootaerd H., Simoens F., Huysmans A. y Verstraete W. (2000). “Ozonation of sewage sludge prior to anaerobic digestion”. *Water Science Technology*; 42(9):175–8.
- Wei Y., Wang Y., Guo X. y Liu J. (2008). “Sludge reduction potential of the activated sludge process by integrating an oligochaete reactor”. *Journal of Hazardous Materials*. (article in press).
- Wei Y. S., van Houten R. T., Borger A. R., Eikelboom D. H. y Fan Y. B. (2003). “Comparison performances of membrane bioreactor (MBR) and conventional

activated sludge (CAS) processes on sludge reduction induced by Oligochaete". *Environmental Science & Technology* 37: 3171–3180.

- Werther J. y Ogada T. (1999). "Sewage sludge combustion". *Progress in Energy and Combustion Science*; 25; pp. 55-116.
- Whiteley C., Pletschke B., Rose P., Tshivhunge S., Watson S. y Whittington-Jones K (2004). "Activation of proteases in an anaerobic sulphidogenic bioreactor". *Biotechnology Letters*. 26, pp. 55-59.
- Whiteley C.G., Heron P., Pletschke B., Rose P.D., Tshivhunge S., Van Jaarsveld F.P. y Whittington-Jones K (2002a). "The enzymology of sludge solubilisation utilizing sulfate reducing systems. Properties of proteases and phosphatases". *Enzyme Microbial Technology*, 31. pp. 419-424.
- Whiteley C., Pletschke B., Rose P. y Ngesi N. (2002b). "Specific sulphur metabolites stimulate β -glucosidase activity in an anaerobic sulphidogenic bioreactor". *Biotechnology Letters*, 24. pp. 1509-1513.
- Whiteley C.G., Burgess J.E., Melamane X., Pletschke B. y Rose P.D. (2003a). "The enzymology of sludge solubilization utilizing sulphate-reducing systems: The properties of lipases". *Water Research*, 37. pp. 289-296.
- Whiteley C.G., Enongene G., Pletschke B.I., Rose P. y Whittington-Jones K. (2003b). "Co-digestion of primary sewage sludge and industrial wastewater under anaerobic sulphate reducing conditions: enzymatic profiles in a recycling sludge bed reactor". *Water Science and Technology*, 48 (4), pp. 129-138.
- Wood, J.M. y Wang, H.K. (1983). "Microbial resistance to heavy metals". *Environmental Science & Technology*. 17, pp. 582A–590A.
- Yan S., Miyana K., Xing X-H. y Tanji Y. (2008). "Succession of bacterial community and enzymatic activities of activated sludge by heat-treatment for reduction of excess sludge". *Biochemical Engineering Journal* 39, 598-603.
- Ye F.X., Shen D.S. y Li.Y. (2003). "Reduction in excess sludge production by addition of chemical uncouplers in activated sludge batch cultures". *Journal of Applied Microbiology*. 95: 781-786.
- Yu G-H., He P-J., Shao L-M. y Lee D-J. (2007). "Enzyme activities in activated sludge flocs". *Applied Microbiology and Biotechnology*. 77 (3) 605-612.
- Zhao Q.L. y Kugel G. (1997). "Thermophilic/mesophilic digestion of sewage sludge and organic waste". *Environ Science Health*; 31:2211-31.

Anexo

**OPTIMIZATION OF AN
ACTIVATED SLUDGE SYSTEM
FOR REDUCING EXCESS
SLUDGE PRODUCTION**

Summary

INDEX

1. Introduction and objectives.....	3
2. Methodology.....	8
3. Results and discussion.....	11
3.1 Influence of the hydraulic retention time on excess sludge production. Searching for the best performance conditions for the activated sludge system at lab-scale.	11
3.2 Use of chemical uncouplers to reduce excess sludge production.....	15
3.3 Application of the OSA process in a lab-scale activated sludge system.	26
3.4 Solubilisation of sludge and colloidal and particulate organic matter by enzymes from an aerobic sludge digester to reduce excess sludge in a lab-scale activated sludge system.....	30
3.5. Enocomic, technical and environmental aspects of the implementation of excess sludge reduction estrategies.....	35
4. Conclusions.....	39

1. Introduction and objectives

During sewage treatment a residual sludge is generated. The treatment and management of that solid waste result really important because it concentrates all the pollutants that are removed from wastewater.

Nowadays, excess sludge generation is one of the most serious problems encountered in wastewater aerobic treatment. In the European Union, about 30000 millions m³ of wastewater are generated per year. Only a 35% is treated in wastewater treatment plants (WWTP). The treatment of that sewage produces nearly 6.5 millions ton the dry sludge per year. Spain contributes to that sludge generation in about 10%. During the last years, the sludge production has been increased as the environmental legislation referred to wastewater treatment has been improved (Royal Decree 11/1995, which regulates the urban wastewater treatment, or the National Plans of Sanitation and Wastewater Treatment of the period 1995-2005 and, the most recent, of 2007-2015). The fulfilment of these procedures carries an increase in the generation of excess sludge that is necessary to treat in the Spanish geography.

In order to regulate the management of these residues, the National Plan on Sewage Sludge (2001-2006) was promulgated. The objectives of this plan were to improve the management of sewage sludge, and especially optimize the agricultural application, protecting the environment and specially the quality of the soil. That Plan considered that the recycling of nutrients and organic matter by agricultural land application was the most sustainable option for these residues. Recently, a Second National Plan on Sewage Sludge for the period 2007-2015 has been established as a part of the National Integrated Plan of Residues (PNIR). However, the final destination of the treated sludge still being a real problem that must be consider during the planning of sanitation and sewage treatment.

According to the National Sewage Register, the production of sewage sludge has increased in 39 % in the period 1997-2005. The following figure shows the quantity of sludge generated per year from 1997 to 2005.

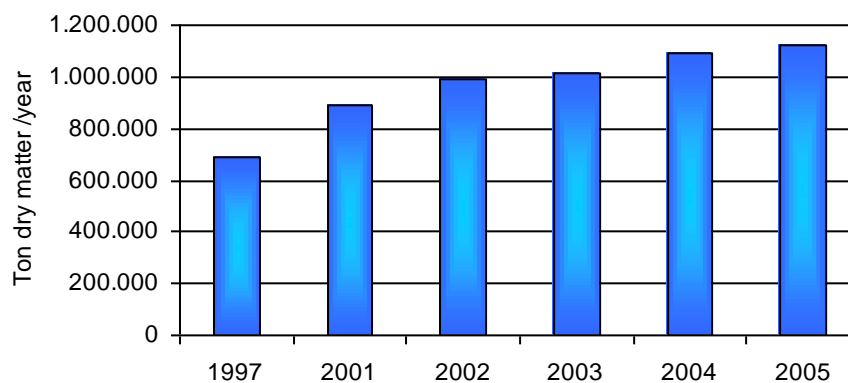


Figure 1. Evolution of sewage sludge production in Spain (ton dry matter/ year)

Daily production of excess sludge from conventional activated sludge process is around 15-100 l·kg⁻¹ BOD₅ removed, in which over 95% is water (Metcalf and Eddy, 1991; Bitton, 1994). The management and treatment of the excess sludge may account for 25-65% of the total plant operation cost (Horan, 1990; Zhao and Kugel, 1997).

Recent researches have been addressed to limit excess sludge production by applying different strategies: (1) mineralization or disintegration of excess sludge using chemical or physical treatment, such as ozonation (Dytczak et al., 2007), chlorination (Saby et al., 2002), heating (Yan et al., 2008), photo-Fenton reaction (M. Tokumura et al., 2008); (2) predation by oligochaete (Liang P. et al., 2006; B. Song and X. Chen, 2008; Y. Wei et al., 2008); modification of a conventional activated sludge process by inserting a sludge holding tanks in the sludge return circuit to form an oxic-settling-anaerobic process (OSA) (Chen G-H. et al., 2003); and (4) uncoupling bacteria metabolism by using special chemicals such as metabolic uncouplers. In this study three different strategies have been applied:

a) *Use of metabolic uncouplers*

Under usual conditions, the catabolism of microorganisms is coupling with anabolism through energy transfer, and the energy released from catabolism is used for anabolic processes such as cell growth and maintenance (Strand et al., 1999). However, according to the theory of metabolism uncoupling (Low and Chase, 1999), in many cases microorganisms can not adjust their energy level of catabolism to acclimate to that of anabolism. Therefore, not all of the energy generated from catabolism could be used for cell growth. Part of the energy is lost to non-growth-associated reactions, and accordingly the production of excess sludge would be reduced (Chen et al., 2006).

Some authors have proposed to use metabolic uncouplers to reduce excess sludge production, which is to disassociate the energy coupling between catabolism and anabolism, thereby resulting in dissipation of certain portions of energy through futile cycles (Chen et al., 2000; Cook M and Russell B., 1994). Chemiosmotic mechanisms of oxidative phosphorylation can be uncoupled using organic protonophores, e.g., 2, 4-dinitrophenol (dNP), para-nitrophenol (pNP), 3, 3', 4', 5-tetrachlorosalicylanilide (TCS) and pentachlorophenol (Cook and Russell, 1994; Low and Chase, 1998; Neijssel, 1977, Chen G-W. et al., 2008). However, some kinds of heavy metals exhibit similar effects on the activated sludge systems (Cabrero et al., 1998). In the presence of heavy metals bacteria would consume extra energy to satisfy some unknown requirements other than growth (Liu Y., 2000). Tynecka et al. (1981) postulated that energy-dependent metal efflux system could be powered by the H⁺ gradient across the cellular membrane or directly coupled to ATP energy. Some mechanisms for microbial resistance to heavy metal has been reviewed by Wood and Wang (1983), however, it is shown that any mechanism for resistance to inhibition and toxicity requires additional input of cellular energy. Therefore, it appears that futile cycles of energy may be an effective way for bacteria to enhance their ability against the inhibition of heavy metals at the cost of consuming nongrowth energy (Liu Y., 2000).

Uncouplers' dosage could derive in a greater oxygen uptake as a consequence of the catabolism activation (Mayhew et al., 1998). Therefore, aeration must be increased in the biological reactor which supposes larger operational costs. Other technical problem associated with the application of the metabolic uncouplers is the long-term microbial acclimation that could eventually negate the effects of uncouplers addition as noted Strand et al. (1999). However, in order to maintain a lower microbial growth yield, metabolic uncouplers need to be continuously dosed to aeration tank (Liu et al., 2003).

b) *Oxic-settling- Anaerobic Process (OSA)*

This strategy, as described by Chen et al. (2003) consist in the modification of a conventional activated sludge process by inserting a sludge holding tank in the sludge recirculation to form an oxic-settling-anaerobic process (OSA), which reduces the excess sludge production effectively. Such a reduction is associated with the insertion of the sludge holding tank that retains thickened sludge from the settling tank under the no air supply condition, which results in an “anaerobic” sludge zone in an OSA process.

The OSA process can not be compared to the nitrogen removal activated sludge as there are differences between the anaerobia zones of each process. In the sludge holding tank, few external organic substrates are left since they have already been utilized in the clarifier prior to entering the sludge holding tank. However, in the anaerobic zone of a conventional nutrient removal process, adequate external substrate is supplied. In addition, the sludge holding tank also contains twice sludge than in the conventional processes in terms of sludge concentration, which means a large portion of the sludge is exposed to the anaerobic zone in the OSA process.

The phenomenon of sludge reduction in the OSA system has been already explained by Chudoba et al. (1992a, 1992b) who proposed an energy uncoupling theory. This theory suggests that ATP content in the sludge depletes when sludge is retained in the anaerobic tank; when the sludge is returned to the aeration tank, ATP in the sludge would proliferate under the aerobic and foodsufficient conditions. Therefore, it appears that alternative aerobic-anaerobic cycling of activated sludge would stimulate catabolic activity, and make catabolism dissociate from anabolism. As pointed out earlier, maximized energy uncoupling would result in a minimized sludge yield. The energy uncoupling induced by alternative aerobic and anaerobic treatment constructs theoretical basis of oxic-settling-anaerobic technique designed for excess sludge minimization.

Recent studies have proposed other possible explanations for excess sludge reduction. They are:

- Domination of slow growers over the entire microbial population that may also result in a small $Y_{x/s}$ value (Low and Chase, 1999);

- Soluble microbial products (SMPs) may be metabolically toxic to the microbes, triggering extensive use of energy to regulate metabolic activity, thereby limiting sludge growth (Barker and Stuckey, 1999; Capdeville and Nguyen, 1990);
- Sludge decay may be accelerated in the sludge holding tank. In fact, it is possible that the sludge reduction may be due to sludge predation by microorganisms (Lee and Welander, 1996; Ratsak et al., 1994).

It has been found that the oxidation-reduction potential (ORP) level in the sludge holding tank plays an important role in reducing the excess sludge and an ORP level below +100 mV stimulates sludge reduction (Chen et al., 2003). In fact, the sludge reduction efficiency increased from 23% to 58% when the ORP level decreases from +100 mV to -250 mV (Saby et al., 2002). These results showed that the OSA process could result in a significant decrease in excess sludge production, and the COD removal and sludge settleability could also be improved.

c) Lysis-cryptic growth

Some strategies for excess sludge reduction are based on cell lysis. Cell lysis will release cell contents (enzymes, carbon substrate, exopolymers) into the medium, thus providing an autochthonous substrate that contributes to the organic loading. This organic autochthonous substrate is reused in microbial metabolism and a portion of the carbon is liberated as products of respiration (CO₂), and then results in a reduced overall biomass production. The biomass growth that subsequently occurs on this autochthonous substrate cannot be distinguished from growth on the original organic substrate, and is therefore termed as cryptic growth (Mason CA. et al., 1987).

Several methods have been applied for promoting sludge disintegration so far: (i) thermal treatment in the temperature range from 40°C to 180°C (Kepp U. Et al., 1999, Barjenbruch M. et al., 1999), (ii) chemical treatment using acids or alkali (Tanaka et al., 1997), (iii) mechanical disintegration using ultrasounds, mills, and homogenizers (Baier U. and Schmidheiny P., 1997.; Kopp J. et al., 1997; Camacho P. et al., 2002; Nolasco MA. et al., 2002; Tiehm A. et al., 1997; Tiehm A. et al., 2001; Chu CP. et al., 2001; Onyeche TI. et al., 2002); (iv) freezing and thawing (Chu CP. et al., 1999), (v) advanced oxidation processes such as wet air oxidation, using H₂O₂ and ozone (Weemaes M., et al., 2000; Neyens E. et al., 2003a), (vi) combination ways such as thermo-chemical treatment (Saiki Y., et al., 1999; Neyens E. et al. 2003b; Neyens E. et al. 2003c), combination of alkaline and ultrasonic treatment (Chiu YC. et al., 1997), and (vii) biological hydrolysis with enzyme addition (Guellil A. et al., 2001).

Part of the reduction of excess sludge is also caused by the solubilisation of particulate and colloidal organic waste from wastewater. Those pollutants are much more difficult to degrade than simple soluble material, and, consequently, constitute part of the excess sludge. By solubilisation, colloidal and particulate organic material is converted into lower molecular weight soluble compounds that can pass through the bacterial cell wall, be used as food and to

be converted, in part into carbon dioxide and water. Most of the strategies for excess sludge reduction have been applied in batch cultures and no evaluation of their effect on an activated sludge system has been done.

The **main objective** of this study is to **optimize** the performance of an activated sludge system introducing some of the **strategies** described previously to **reduce excess sludge** generation and making its management and treatment easier. Although this study has been developed in an activated sludge system, its results are applicable to any other suspended growth bioreactors. In order to reach the main objective the following partial objectives have been defined:

- Make a revision of the different strategies applied for excess sludge reduction and select the most interesting for testing in a lab-pilot plant.
- Start-up of an activated sludge system at a lab scale and study the excess sludge generation in a CAS (Conventional Activated Sludge) system.
- Application of the strategies selected to reduce excess sludge on the pilot plan to evaluate both the minimization the performance of the system (settling characteristics, microbial biodiversity, organic matter removal efficiency, etc.). Those strategies were: the daily addition of chemical uncouplers, the OSA process and the inlet of the soluble products from an aerobic sludge digester (self-digestion system)
- Comparison of the results obtained for each of the strategies having account of economic, technical and environmental criteria.

2. Methodology

The experimental phase of the present report has developed in six steps:

- Step I: Establishment of the protocol for the setup of the activated sludge system under lab conditions. Study of the microbial succession.
- Step II: Influence of the hydraulic retention time on excess sludge production.
- Step III: Metabolic uncoupler for reducing excess sludge.
 - Preliminary essays: comparison of four chemical uncouplers in batch reactors. Selection of the chemical compound that shows more successful results for its daily addition to an activated sludge system.
 - Performance of a lab-scale activated sludge system under the continuous dose of one chemical uncoupler.
- Step IV: Application of the OSA process in a lab-scale activated sludge system.
- Step V: Solubilization of sludge and colloidal and particulate organic matter by enzymes from an aerobic sludge digester to reduce excess sludge in a lab-scale activated sludge system.
- Step VI: economic evaluation of the alternatives tested.

In this summary the results from step I are not shown.

Figure 2 presents a scheme of the activated sludge lab-scale system employed in the continuous essays.

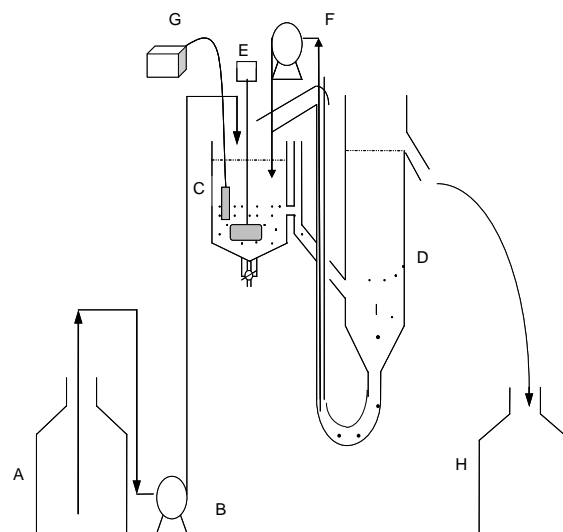


Figure 2. Lab-scale reactor used for continuous essays

where,

A Wastewater reservoir (25 L)	E Agitation system
B Feeding pump	F recirculation pump
C Aeration tank (3,5 L)	G Aeration diffuser
D Secondary settler (2,5 L)	H Effluent deposit

The bioreactor was inoculated with 2.5 l of sludge collected from the aeration basin of an urban wastewater treatment plant. The system was filled with real wastewater from the primary clarifier of the same facility. Before the application of each of the strategies for excess sludge reduction, an acclimatization period was performance in order to facilitate microorganisms adaptation to the synthetic wastewater (SWW) used for feeding the system (exception: in the step II one essay is developed with real wastewater). During this period, SWW was supplied in a growing portion with the real wastewater until reaching 100% of SWW. Table 1 show the SSW composition used in this work.

Table 1. Synthetic wastewater composition

Component	Concentration (mg/l)
Peptone	160
Urea	30
Meat Extract	110
Na Cl	7
CaCl ₂ · H ₂ O	4
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	2
K ₂ HPO ₄	28

Pure glucose (C₆H₁₂O₆) was added to enrich the SWW, resulting in a theoretical COD of about 500 mg O₂/L.

Daily, the activated sludge system was monitored. The following parameters were used for the unit's control: suspension solids (total and volatile) both in the aeration basin (TSSat and VSSat) and the purge from the clarifier (TSSw and VSSw); the dissolved oxygen (DO), pH and temperature at the aeration tank; the sludge volumetric index (SVI) and the chemical oxygen demand in the influent (COD₀) and at the final effluent (COD_e). All these parameters were determined in accordance with the recommendations of Standard Methods (APHA, 1992). In order to monitor the microbial activity, the specific oxygen uptake rate (SOUR) was measured as described by Awong et al. (1985).

In addition to SOUR, cell DNA-staining and cell respiratory activity-detecting techniques were used in measuring the total amount of bacteria and the amount of respiring bacteria in the sludge samples by applying two fluorocroms: the 4', 6-diamino-2-phenyl indole (DAPI) staining and the 5-cyano-2, 3-ditolyl tetrazolium chloride (CTC) staining respectively. 1ml

sample from the aeration tank was diluted with 1 ml of the CTC solution prepared with buffered water (final dilution 1:2). After 2 hours of incubation at 20°C in dark, the reaction was stopped with 1 ml of formaldehyde 37%. The solution was then dispersed by sonication. The dispersion was then immediately diluted in buffered water until a final dilution 1:15.000 and subjected to the DAPI staining that can stain bacterial DNA regardless of alive and dead bacteria (Saby et al., 1997). The total number of fluorescent bacteria generated by DAPI-staining technique was counted using an epifluorescence microscope (objective $\times 100$, Olympus BX40) under a UV light at a wavelength of 330–385 nm. This counting was conducted in 30 fields in order to secure an acceptable accuracy, and the result was expressed as cells/mL. Respiring bacteria produce red-fluorescent CTC-formazan granules that can be examined under the epifluorescence microscope with a 450-nm filter for excitation and a 515-nm cutoff filter during the counting with a UV or blue light at a wavelength of 450–515 nm. Similarly, the 30-field counting was conducted. Both total and respiring bacteria were expressed in cells/ml.

To quantify the excess sludge reduction, a final batch essay was carried out to obtain the kinetics parameters under each of the different operational conditions tested. The observed growth yield ($Y_{x/s}$ or Y_{obs}) was determined from the increase in MLSS divided by the decrease in COD soluble. Measurements of VSS and COD were done at times 0, 2, 5 and 24 hours. The amount of SSW added was proportional to the HRT conditions of the continuous systems so as to keep constant the masic load ($\text{kgDBO}_5/\text{KgVSS}$).

3. Results and discussion

3.1. Influence of the hydraulic retention time on excess sludge production.

Searching for the best performance conditions for the activated sludge system at lab-scale.

Two essays were conducted in parallel to analyze the effect of the hydraulic retention time (HRT) on the excess sludge production. Secondly, the best operational conditions for the lab-scale activated sludge system were also searched.

Two pilot systems were used in this essay. One of them was fed with real wastewater (RWW) from the primary settler of an urban wastewater treatment plant. The other system was fed with synthetic wastewater (SWW), which composition is shown in table 1.

Both systems were performance under four different HRT (h). Operational conditions are shown in table 2.

Table 2. Operational conditions tested in activated sludge systems fed with RWW and SWW

Stage	Time (days)	HRT (h)	Influent flow rate, Q_i (l/h)	Recirculation flow rate, Q_r (l/h)	Q_r/Q_a
1	1-9	11	0.30	0.48	1.6
2	10-18	9	0.40	0.61	1.52
3	19-32	7	0.50	0.69	1.38
4	33-41	5	0.70	1.00	1.42

The ratio Q_r/Q_i was kept above 1 in order to avoid bulking phenomena in the secondary clarifier (is a conclusion of the setup essays that are not described in this summary).

Tables 3 and 4 compiled the data from the performance of the system under the different operational conditions.

Table 3. Activated sludge system fed with real wastewater (RWW)

HRT (h)	TSS _{at} (g/l)	VSS _{at} (g/l)	Sludge Age(days)	SOUR (mgO ₂ ·gVSS ⁻¹ ·d ⁻¹)	SVI (ml/gTSS)	Cel. total/ml	Cel. active/ml	% Active	COD removal (%)
11	1.76	1.60	5.7	319.5	72	2.7x10 ¹⁰	3.0x10 ⁹	11	87
9	2.63	2.17	7.1	298.9	53	3.7x10 ¹⁰	6.3x10 ⁹	17	83
7	3.74	3.13	8.3	262.9	113	3.1x10 ¹⁰	5.1x10 ⁹	16	88
5	3.77	3.12	6.9	360.2	219	4.1x10 ¹⁰	8.1x10 ⁹	20	56

Table 4. Activated sludge system fed with synthetic wastewater (SWW)

HRT (h)	TSS _{at} (g/l)	VSS _{at} (g/l)	Sludge Age(days)	SOUR (mgO ₂ ·gVSS ⁻¹ ·d ⁻¹)	SVI (ml/gTSS)	Cel. total/ml	Cel. active/ml	% Active	COD removal (%)
11	2.26	2.22	9.2	137.9	100	6.2x10 ¹⁰	1.1x10 ¹⁰	18	87
9	2.21	2.21	8.6	304.5	125	4.7x10 ¹⁰	8.4x10 ⁹	18	83
7	2.41	2.41	8.2	366.9	180	4.9x10 ¹⁰	9.4x10 ⁹	19	82
5	1.57	1.57	8.5	583.5	447	4.5x10 ¹⁰	9.7x10 ⁹	21	72

In the system fed with RWW an increase in total and volatile suspended solids was observed when the HRT was decreased from 11 h to 5 h. Concretely, at the end of the trial, the TSS concentration doubled the initial value. This trend was expected as the organic load increased when increasing the influent flow rate and more organic matter was available to be transformed into new cells by anabolism pathways.

Cell's activity experimented an improvement when varying the operational parameters from extended aeration conditions (HRT= 11 h) to conventional ones (HRT= 5 h) detected by a greater percentage of active cells. This activation was also observed by the SOUR although not in a clearly way. For instance, the respiration rate was higher when the HRT was 9 h than the one obtained at HRT = 7 h. At HRT of 5 hours the SOUR described an important increase due to the greater organic load. Although the respiratory activity of the sludge increased, the COD removal efficiency fell from 87% to 56%, caused by a loss of solids from the secondary settler in the final effluent, which made the effluent's quality got worst. The sludge volumetric index (SVI) under HRT = 5 h reached 220 ml/g TSS which pointed out bad settling conditions.

The system fed with SWW showed a more regular performance during this essay than the one fed with RWW. However, a similar trend in TSS and VSS was observed (an increase when HRT was reduced). The increment in TSS concentration was not as noticeable as the one measured in the system fed with RWW. In fact, the TSS were increased by 0.20 mg/l approximately from HRT =11 h to HRT= 7 h. At HRT= 5 h an important loss of suspended solids was detected in the outlet of the system. The SVI got upper than 120 ml/g TSS, and reached 500 ml/gTSS, which meant a very poor decantability. This situation was due to the proliferation of filamentous bacteria (bulking sludge). However, COD removal efficiency noticed a lower fall than in the system fed with RWW. Furthermore, the activity of the microorganisms was increased as shown by the evolution of both SOUR and the percentage of active cells.

In both systems pH was kept around neutral conditions.

Figure 3 summarizes the cumulative excess sludge wasted daily in both systems under the different HRT tested. In the case of the plant fed with RWW, the excess sludge production increased when the HRT was decreased. That trend indicates that a low HRT promotes the excess sludge production. For instance, the excess sludge production rate was only 0.89 g/day

when $HRT = 11$ h, almost half that of the value obtained for $HRT = 5$ h (1.71 g/day). In the reactor fed with SWW, excess sludge production did not varied too much from HRT 11 h (0.85 g/day), 9 h (0.91 g/day), and 7 h (0.94 g/day). At $HRT = 5$ h, the waste sludge rate decreased to 0.59 g/day. That last value was correlated with the instability of the system and the not controlled loss of sludge in the exit of the secondary clarifier.

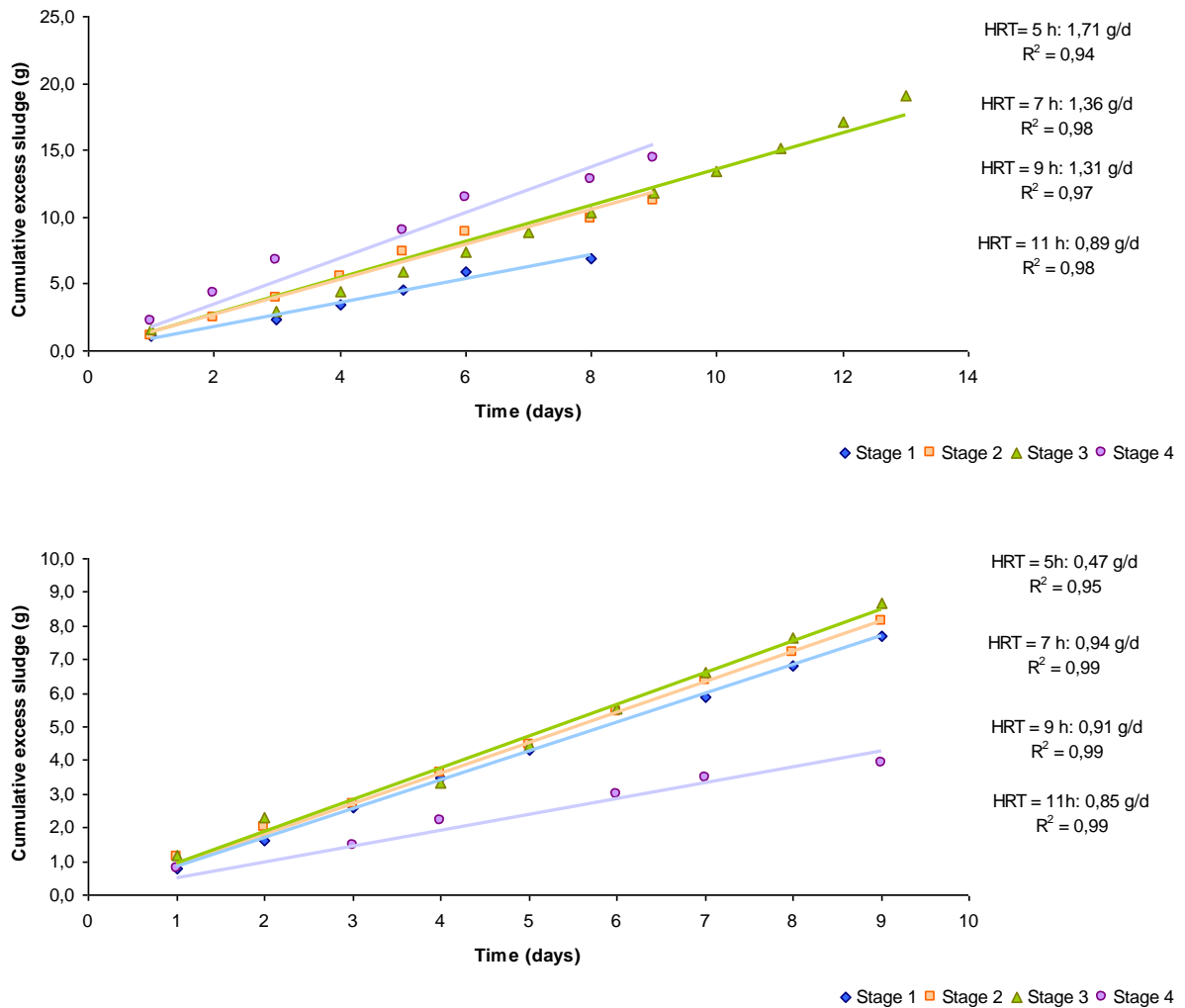


Figure 3. Impact of the HRT on excess sludge production in activated sludge system a) fed with real wastewater and b) fed with synthetic wastewater

Table 5 shows the observed growth yield ($Y_{x/s}$) obtained from samples of sludge at the end of each of the operational conditions.

Table 5. Observed growth yield obtained for activated sludge systems fed with RWW and SWW under different HRT

HRT (h)	VSS _f -VSS ₀ (mg/l)		COD _f - COD ₀ (mgO ₂ /l)		Y _{x/s} (mgVSS/mg COD)	
	<u>Real</u>	<u>Synthetic</u>	<u>Real</u>	<u>Synthetic</u>	<u>Real</u>	<u>Synthetic</u>
11	30	40	68.20	92.93	0.44	0.43
9	40	40	86.95	88.48	0.46	0.45
7	50	60	101.37	128.41	0.49	0.47
5	60	80	114.89	159.23	0.52	0.50

In both systems, the growth yield presented a very similar tendency. The Y_{x/s} increased when HRT decreased, showing a parallel trend to the excess sludge production. These two parameters are therefore correlative. The lowest yields were obtained for HRT = 11 h, as expected. However, the differences between the values obtained for each condition were not very important. In the RWW system the range of growth yield was 0.44-0.52 mgVSS/mgCOD, while for the SWW system, 0.43-0.50 mgVSS/mgCOD.

In this first essay, it has been demonstrated that excess sludge production increased when HRT decreased. The lowest Y_{x/s} was obtained for HRT = 11 h. In addition, it was detected that both systems fed with RWW and SWW became unstable under HRT = 5 h.

3.2. Use of chemical uncouplers to reduce excess sludge production

3.2.1. Comparison of four chemical uncouplers in batch reactors

The main objectives of these essays were to compare the effectiveness of four metabolic uncouplers, two organic protonophores (2,4-dNP and TCS) and two heavy metals (Zn and Cu), in reducing excess sludge and select the one that present better results to apply in a lab-scale activated sludge system.

Activated sludge for shaking reactor batch experiments was taken from an urban wastewater treatment plant of Cadiz (Spain). Reactors were inoculated with 1.75 l of activated sludge and aerated for 2-3 h to stabilize biological activity before the test. Final biomass concentration was 2000-2500 mg volatile suspended solids (VSS) l⁻¹. According to the literature the uncoupler dosage was: 20, 30 and 40 mg 2,4-dNP ·l⁻¹ (Ye et al., 2003); 0.2, 0.5 and 0.8 mg TCS ·l⁻¹ (Chen et al., 2000), 5, 10 and 15 mg Cu ·l⁻¹ and, finally, 5, 10 and 15 mg Zn ·l⁻¹ (Cabrero et al., 1998). Four different essays were planned for each chemical uncoupler. Each test included eight bottles: 2 without the uncoupler added and 2 bottles for each concentration. Each condition was tested in duplicated.

At first, the uncoupler was added to the reactors. Then, 20 ml concentrated SWW was added (COD, 40.000 mg/l). The bottles were kept in aeration by porous diffusers that homogenised the reactors content. Essays were developed at 20°C.

Sludge yield (Y_x/s) was calculated from change in biomass dry weight divided by the COD consumed during the test. In order minimize the sludge loss caused by sludge decay, the Y_x/s was determined in 6-h batch tests rather than in batch test with longer duration, doubling the duration proposed by Chen et al. (2002). Samples were taken at the beginning of the test and at 1, 3 and 6 hours.

The criteria adopted for the uncoupler's evaluation were the following ones:

- The activated sludge observed growth rate (Y_x/s) must be declined in the presence of the uncoupler.
- The effect of the uncoupler on the specific oxygen uptake rate must be zero or positive; never an inhibition of the respiration rate must be detected under the uncoupler's dosage. In fact, successful inhibition of metabolism dissociation is illustrated by a greater oxygen uptake rate than the control as reported by Mayhew M. & Stephenson T. (1998).
- The COD removal efficiency must not be inhibited by uncouplers' addition since only anabolism but not catabolism must be unfavoured.

In table 6, the observed growth yield ($Y_{x/s}$) obtained for each uncoupler and dose are shown.

Table 6. Observed growth yield obtained in 6-h test for Cu, Zn, DNP and TCS

Uncoupler (mg/l)	$Y_{x/s}$ 6h (mgVSS/mg COD)
Copper	
0	0.45
5	0.47
10	0.45
15	0.46
Zinc	
0	0.44
5	0.45
10	0.30
15	0.36
DNP	
0	0.44
20	0.49
30	0.38
40	0.52
TCS	
0	0.50
0.2	0.46
0.5	0.35
0.8	0.34

As observed on table 6, the addition of copper did not have any effect on the $Y_{x/s}$. The observed growth rate was 0.45 mgVSS/mgCOD for the control and also for 10 mgCu/l, while for 5 and 15 mgCu/l it was 0.47 and 0.46 mgVSS/mgCOD, respectively. Those results are conflicting with the ones obtained in other studies. In fact, Cabrero et al. (1998) revealed that copper could minimize biomass production by a 37% at 20 mg/l. However, the initial biomass concentration was 500 mg/l in the essays carried by Cabrero, while in this study the volatile suspended solids were established between 2000-2500 mg/l. Therefore, the ratio of initial copper concentration to initial biomass concentration (CCu/X_0) was < 0.01 mg Cu/ mg VSS. Not higher concentrations were tested as the respiration rate and COD removal efficiency (data shown on table 7) diminished as the copper dosage was increased as well as the active/total cells ratio, pointing out a general inhibition of the metabolic pathways (both catabolism and anabolism). In fact, M.Y. Pamukoglu and F. Kargi (2007) concluded that the addition of 15 mg·l⁻¹ Cu (II) could decrease the growth yield coefficient by a 35% but notably increase the death rate constant, with an associate reduction in COD removal. In addition, other chemical uncouplers produced better results even at lower concentrations.

By contrary, Zn decreased the activated sludge observed growth when dosed upper than 5 mg/l as observed in table 6, even though the ratio of initial Zinc to volatile suspended solids was $CZn/X_0 < 0.01$ mg Zn / mg VSS, as in the copper test. The minimum $Y_{x/s}$ was 0.30 mg VSS/ mg COD obtained for 10 mg Zn/l which supposed a reduction of 30% respect from the control reactor (0.44 mg VSS/mg COD). For 5 and 15 mg Zn/l the observed growth yield was 0.45 and 0.36 mg VSS/mgCOD respectively. Although Zn doses reduced the $Y_{x/s}$, it had

to be checked that the respiration rate as well as the substrate removal efficiency and the active/total cells ratio, were not negatively affected by Zn presence. As observed in table 7, Zinc reduced minimally the respiration rate and COD removal efficiency. The inhibition observed was more significant for Zn > 10 mg/l (around a 7% for both the SOUR and COD removal). These results differed from the ones obtained by Lui (2000) who observed a slight increase in the specific removal rates of glucose when CZn/X₀ ratio was increased. The relation between active and total cells (table 7) was slightly decreased by Zn addition by around 10-15%.

Table 7. SOUR, substrate removal efficiency and the total and active cells

Concentration (mg/l)	SOUR (mgO ₂ ·gVSS ⁻¹ ·d ⁻¹)	Substrate removal efficiency (%)	Total Cells (N°cells/ml)	Active Cells (N° cells/ml)	Active/Total cells ratio
Copper (Cu)					
0	213.26 ± 35.22	55	3.72 x10 ⁹	9.29 x10 ⁸	0.25
5	207.55 ± 40.85	54	3.84 x10 ⁹	8.07 x10 ⁸	0.21
10	197.89 ± 43.37	51	3.93 x10 ⁹	5.10 x10 ⁸	0.13
15	183.62 ± 31.95	48	3.96 x10 ⁹	4.76 x10 ⁸	0.12
Zinc (Zn)					
0	230.72 ± 38.97	59	3.57x10 ¹⁰	6.78 x10 ⁹	0.19
5	233.88 ± 34.76	58	3.65 x10 ¹⁰	6.21 x10 ⁹	0.17
10	225.49 ± 41.51	58	3.58 x10 ¹⁰	6.44 x10 ⁹	0.18
15	213.83 ± 28.37	55	3.89 x10 ¹⁰	6.23 x10 ⁹	0.16
DNP					
0	134.92 ± 30.52	64	2.09 x10 ¹⁰	3.55 x10 ⁹	0.17
20	161.19 ± 25.48	66	2.13 x10 ¹⁰	3.83 x10 ⁹	0.18
30	164.68 ± 38.41	63	2.19 x10 ¹⁰	4.82 x10 ⁹	0.22
40	162.49 ± 39.12	55	1.33 x10 ¹⁰	2.26 x10 ⁹	0.17
TCS					
0	248.85 ± 36.85	52	6.58 x10 ⁹	7.26 x10 ⁸	0.11
0.2	263.66 ± 29.54	56	5.99 x10 ⁹	9.90 x10 ⁸	0.17
0.5	267.33 ± 25.73	57	6.08 x10 ⁹	1.00 x10 ⁹	0.16
0.8	267.56 ± 31.25	59	6.46 x10 ⁹	1.07 x10 ⁹	0.17

Note: standard deviation values are not shown in the table in order to facilitate its comprehension.

The DNP/biomass ratio tested varied from 0.009 to 0.018 mg DNP/mgVSS. The growth rate evolution shows an irregular trend. For 30 mg DNP/l the observed growth yield was 0.38 mgVSS/mg COD, which supposed a reduction of approximately 14% in comparison with the control value (0.44 mg VSS/mg COD). However, for 40 mgDNP/l the Y_{x/s} measured was 0.52 mgVSS/ mgCOD, a 18% greater than the control. These results did not corroborate the ones obtained by Ye *et al.* (2003) which obtained a lower growth rates when increasing DNP concentration. In order to explain the observed evolution, COD removal rate was analysed. As shown in table 7, the COD removal efficiency diminished as the DNP concentration was increased. That could be explained by two different hypotheses: an inhibition of catabolism's pathways which must be reflected in a minimization of both COD removal rate and oxygen

uptake rate, or the lysis of some of the cells exposed to DNP and the consequence liberation of protoplasmatic material (an internal contribution of organic matter). The first hypothesis was not confirmed as the SOUR described an important increase for the three DNP doses tested (by around 20%). Therefore, cell lysis became the right hypothesis to support both the $Y_{x/s}$ and COD removal evolution. Even the bacteria's counting reflects an important reduction in both total and active cells, not observed for the rest of uncouplers tested. In the blank reactor the total and active cells concentration was 2.09×10^{10} and 3.55×10^9 cells/ml respectively whereas for 40 mgDNP/l those concentrations diminished to 1.33×10^{10} and 2.26×10^9 cells/ml (a 36% lower than the control).

The effect of TCS addition on the observed growth rate is summarized in table 6. It was apparent that a high TCS concentration was in favour of a reduction in the sludge growth. For instance, when the TCS concentration was 0.8 mgTCS/l, the $Y_{x/s}$ obtained was 0.34 mg VSS/mgCOD which supposed a reduction of approximately 32%. These results corroborated the ones obtained by Chen *et al.* (2002). The effect of TCS addition on both the respiration rate and the COD removal efficiency was positive. The SOUR was activated by TCS presence, concretely the increase measured was around 7.5% for 0.8 mgTCS/l. The three reactors dosed with TCS showed a greater COD removal than the control. The activations detected were 7.7% for 0.2 mg/l, 9.5% for 0.5 mg/l and 13% for 0.8 mg/l. Finally, bacteria counting analysis revealed that TCS produced activation in active/total cells ratio (by around 50%).

For ending the uncouplers analysis, the specific biomass growth rate (μ , h^{-1}) and the specific substrate removal rates (q , h^{-1}) were determined from the change in VSS or COD over the batch tests divided by both the testing duration (6 h) and the mean VSS concentration in the tests. Figure 4, shows the effect of the four uncouplers tested on the relative specific growth rate (μ/μ_0) and the relative specific substrate removal (q/q_0), being the μ_0 and q_0 the rates obtained without the addition of the uncouplers.

The slopes (μ/μ_0) and (q/q_0) could indicate the dissociation of catabolism with anabolism. For Cu addition, both slopes were well associated indicating the coupling of the respiring and construction pathways. So no dissociating effect of copper was detected on the activated sludge metabolism. The negative trend on both curves indicated that copper inhibited both anabolism and catabolism reactions.

For Zn and TCS the uncoupling of catabolism and anabolism was clear when the doses were beyond 5 mgZn/l and 0.5 mgTCS/l respectively. A larger discrepancy between these two parameters occurred for TCS addition. So both Zn and TCS dosage could stimulate the energy spilling that result in a significant reduction in sludge growth.

For DNP, the slopes (μ/μ_0) and (q/q_0) shown an irregular evolution, being identified two intersections between both curves. Only for 30 mg DNP/l the (μ/μ_0) slope was below the (q/q_0) slope which indicated an activation of catabolism and an inhibition of construction pathways. For 20 and 40 mgDNP/l, the anabolic metabolism was activated against the catabolism reactions.

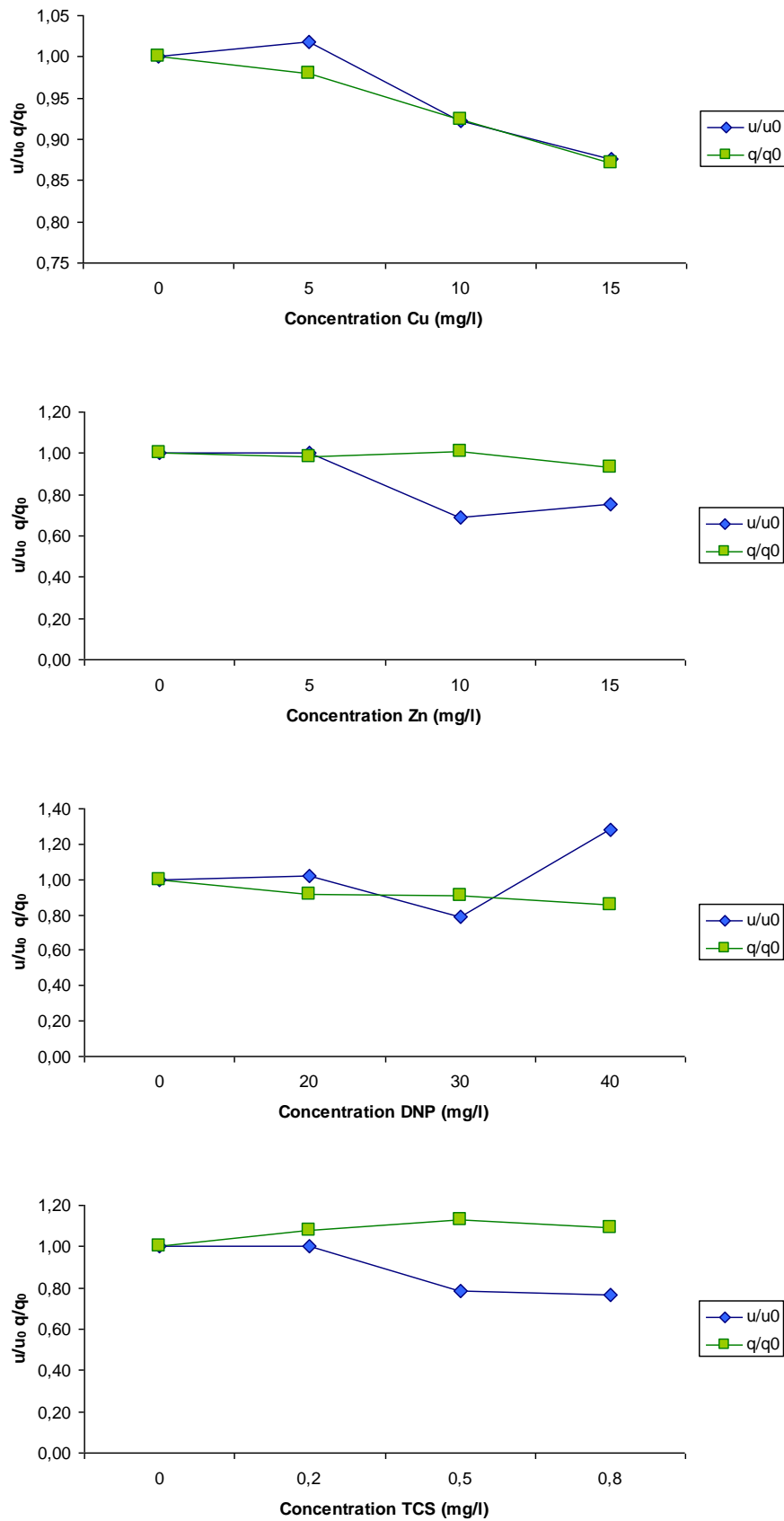


Figure 4. Effect of Cu, Zn, DNP and TCS concentration on the relative specific growth rate (μ/μ_0) and the relative specific substrate removal (q/q_0)

In this essay it has been demonstrated that copper addition has no effect on the sludge growth yield in a batch culture of activated sludge. In addition, both the respiratory activity and COD removal efficiency are inhibited by copper's dosage. On the other hand, zinc has been confirmed to be effective in limiting the observed growth rate in this paper. The 6-h batch tests have demonstrated that the sludge growth can be reduced by around 30% when the Zn dose was $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The trend described by the (μ/μ_0) and (q/q_0) slopes reflects the dissociation of the metabolism and the improvement of catabolism against the anabolic pathways.

For DNP addition not clear results have been obtained in this study. Only for $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ DNP, the $Y_{x/s}$ can be reduced by around 14%, while for $40 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ DNP an important increase is observed in $Y_{x/s}$ (around 18%). Although the dosage of DNP can improve the specific oxygen uptake by 20% approximately, COD removal is decreased with an increase in DNP concentration. Despite the active/total cells ratio seems not be affected by DNP, an important reduction in the number of cells/ml is observed for $40 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ DNP. The evolution described by the relative specific growth rate (μ/μ_0) and the relative specific substrate removal (q/q_0) slopes does not clarify the effect of dNP on the activated sludge metabolism. Only cells' lysis caused by high dNP concentrations and the liberation of protoplasmatic content could explain the decrease of COD removal efficiency and the improvement of $Y_{x/s}$.

According to the results obtained only TCS seems to be very effective in reducing sludge production from activated sludge process. Compared to the control test, the sludge growth yield ($Y_{x/s}$) can be reduced by over 30% at $0.8 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ TCS. The addition of TCS improves the system performance, such as the SOUR and COD removal efficiency were activated by about 8% and 13% respectively as compared to the control test. In addition, this enhancement in microbial activity was directly confirmed with the DAPI- and CTC-staining techniques. An important improvement of active cells is observed microscopically when TCS is added to the reactors. The $0.8 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ TCS concentration increased the active cell percentage by around 54%. Finally, the relative specific growth rate (μ/μ_0) and the relative specific substrate removal (q/q_0) slopes show clearly the dissociating effect of TCS on the bacteria metabolism. Consequently, it may be feasible to apply this uncouple to achieve excess sludge reduction in biological processes.

3.2.2. Performance of a lab-scale activated sludge system under the daily dosage of TCS

Two essays were developed at two different hydraulic retention times (HRT): 11 and 7 h. The influent flow rate was $0.3 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$ and $0.5 \text{ l}\cdot\text{h}^{-1}$ respectively. Before TCS addition, an acclimatization period was performed in order to facilitate microorganisms adaptation to the synthetic wastewater (SWW) used for feeding the system.

In both experiments, TCS was added at a final concentration of 0.5-0.8 mg/l considering the volume of the aeration tank (3.5 l).

Figures 5 and 6 show the evolution of the suspended solids, the respiratory activity and the decantability of the sludge under daily TCS dosage on each operational conditions.

In general, the evolution of total and volatile suspended solids in both essays was quite similar as the amount of solids decreased when the TCS was added to the systems. However, the reduction in the TSS was clearer and more noticeable for HRT of 11 h than for 7 h. For instance, under HRT of 7 h, the TSS described an increase when the TCS dosage was started. From day 26, both the TSS and VSS were reduced in the aeration basin of the system.

The respiration activity of the sludge, measured as SOUR, showed an increase when the TCS was added to the system. This activation can be associated to the uncoupling of anabolism and catabolism pathways as indicated by Mayhew M. & Stephenson T. (1998).

The settleability of the sludge punctually decreased during TCS addition. This decline can not be associated to TCS dosage as it was not a sudden answer to the addition of the uncoupler. However, at the end of both essays, the SVI decreased under 120 ml/g TSS which allowed a good clarification of the effluent at the secondary settler.

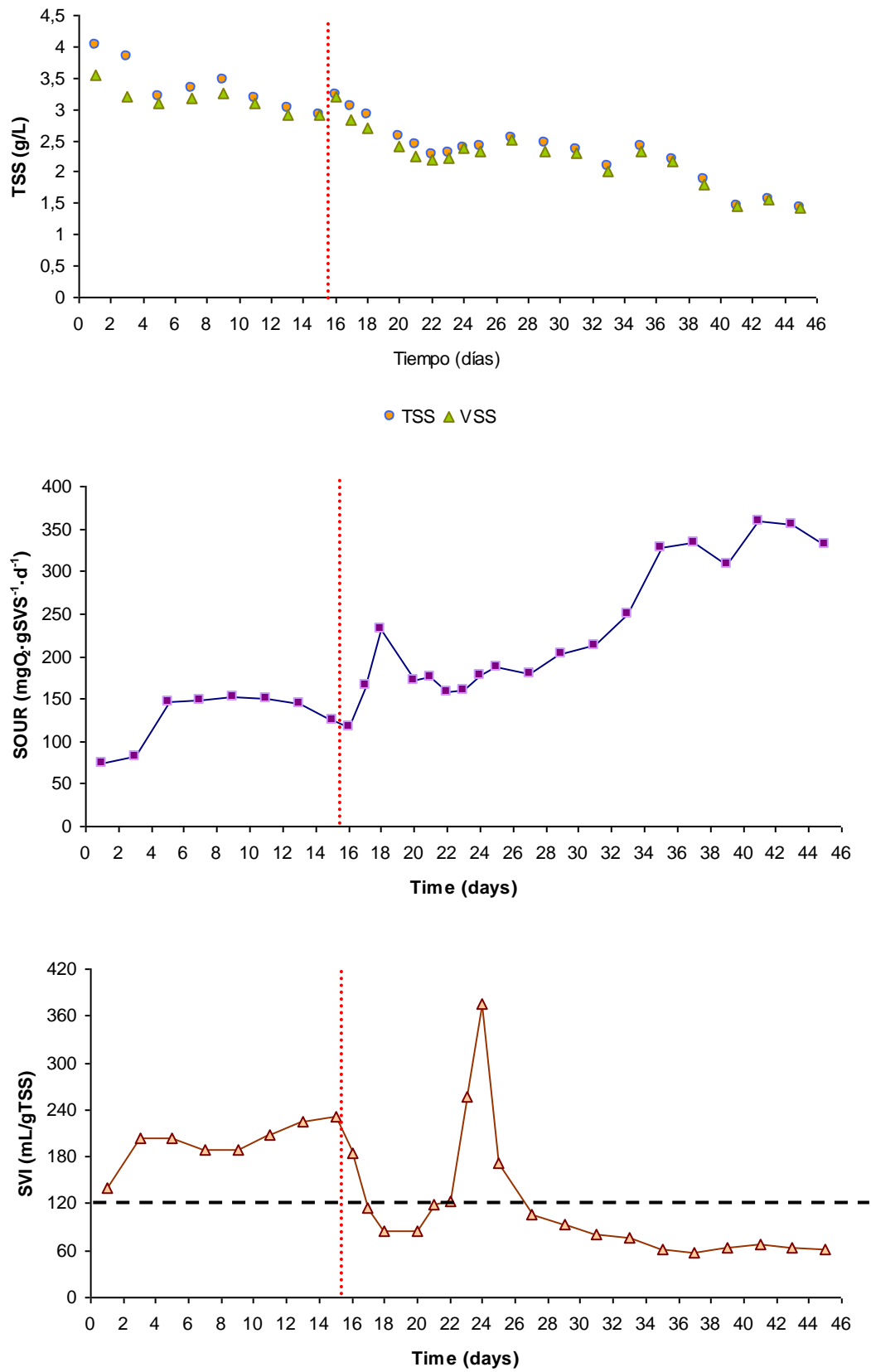


Figure 5. TSS-VSS, SOUR and SVI in the system under HRT =11 h and daily addition of TCS

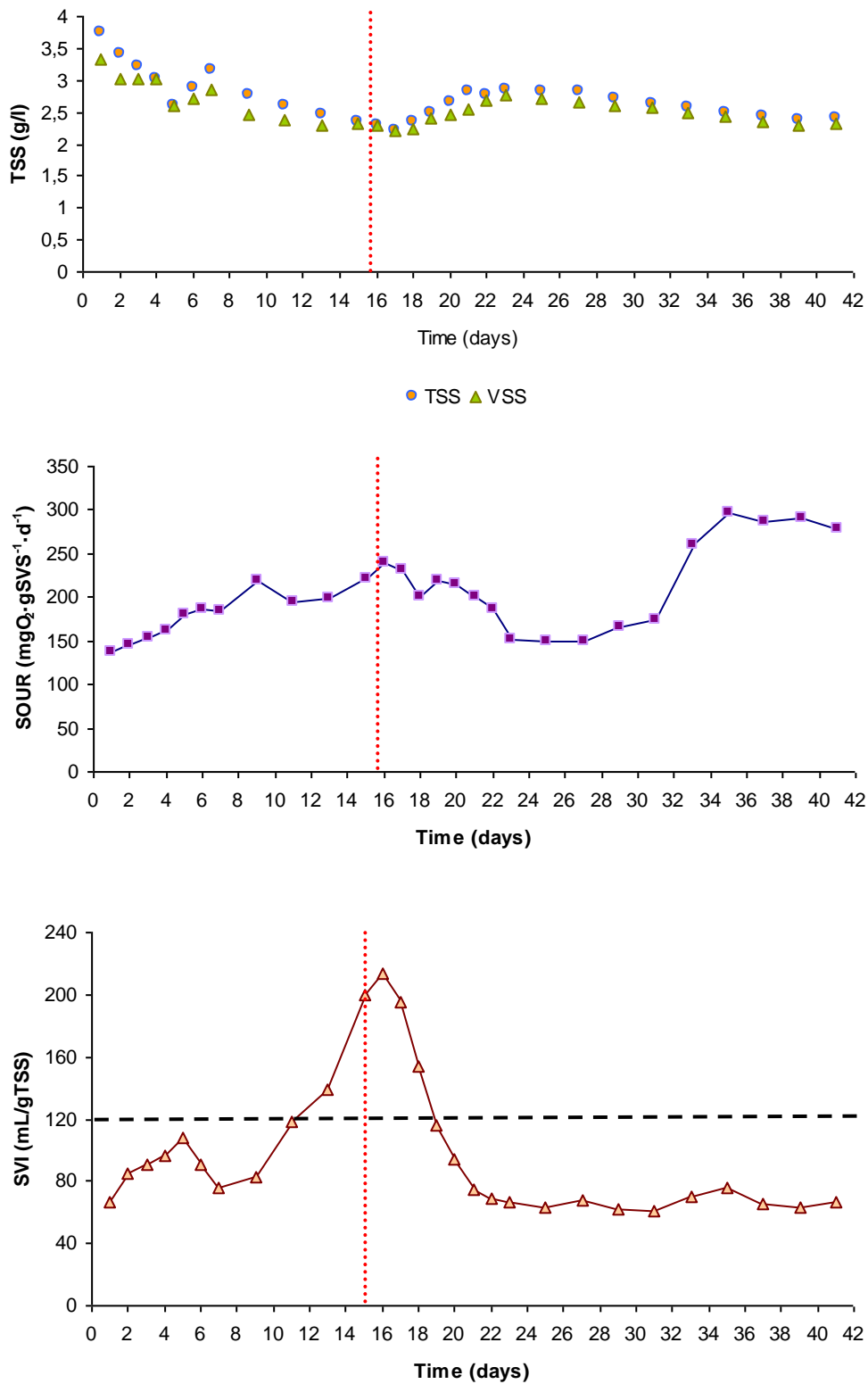


Figure 6. TSS-VSS, SOUR and SVI in the system under HRT =7 h and daily addition of TCS

Figure 7 presents the accumulated amount of excess sludge (g) wasted for each system before and during TCS daily dosage. In the acclimation phase the excess sludge production rate was 0.78 gTSS/d and 0.99 gTSS/d for HRT of 11 h and 7 h, respectively. During TCS dosage, the

accumulated amount of excess sludge in the reactor was reduced to 0.63 gTSS/d and 0.68 gTSS/d.

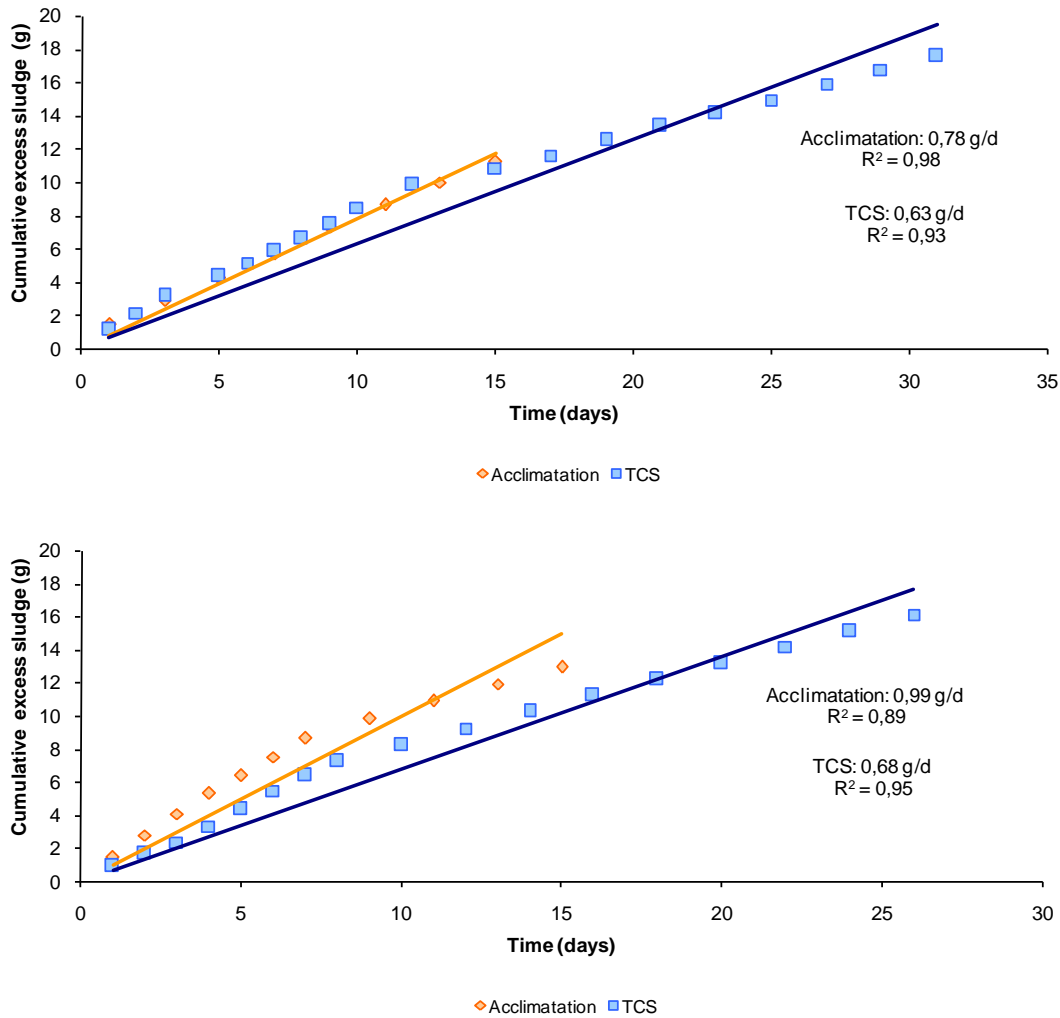


Figure 7. Cumulative wasted sludge from the activated sludge system before and during TCS dosage

Excess sludge production decreased in both essays when the TCS was added to the activated sludge system in comparison with the waste sludge rate obtained for the acclimatization period. In fact, the reduction detected reached the 20% for $HRT = 11$ h and 30% for $HRT = 7$ h. If those results are compared with the ones obtained for the HRT test (figure 3), which is considered the control essay, it is confirmed that the reduction in excess sludge generation reaches a 30%. This reduction in sludge production is also observed in the evolution of both total and volatile suspended solids (figures 5 and 6).

Apart from the evolution of solids both in the aeration tank and in the waste sludge stream, other parameters were evaluated to define the TCS effect on the performance of the activated sludge system. The results of that monitoring are presented in table 8.

Table 8. Experimental results obtained for TCS addition test

Stage	HRT (h)	Sludge Age(days)	Cel. total/ml	Cel. active/ml	% Active	pH	COD removal (%)
A	11	8.7	ND	ND	ND	7.6	82
TCS-add	11	8.8	4.18x10 ¹⁰	5.28x10 ⁹	13	7.2	84
A	7	9.0	4.5x10 ¹⁰	9.4x10 ⁹	20	7.6	82
TCS-add	7	9.7	3.3x10 ¹⁰	5.5x10 ⁹	17	7.0	83

Note: A (acclimatization period); ND (not determined)

Although SOUR noticed an increase when TCS was added to the system, a slight decreased on the percentage of active cells was observed during TCS dose. This reduction could be due to the high ratio mgTCS/mgVSS reached as a consequence of the descense of the biomass in both systems as observed in figures 5 and 6.

Despite the active cells reduction, the COD removal efficiency was not negatively affected by the continuous addition of the organic protonophore. The percentage of COD reduction was kept around 82% before and during the TCS dose for the two different operational conditions tested.

Both sludge age and pH varied weakly during TCS dosage.

Table 9 shows the growth observed yield ($Y_{x/s}$) obtained in the batch essays carried out at the end of the performance of both systems.

Table 9. Observed growth yield obtained for activated sludge systems in TCS systems

Time (h)	VSS(g/l)		COD (mgO ₂ /l)		$Y_{x/s}$ (mgVSS/mg COD)	
	<u>HRT= 11</u>	<u>HRT= 7</u>	<u>HRT= 11</u>	<u>HRT= 7</u>	<u>HRT= 11</u>	<u>HRT= 7</u>
	<u>h</u>	<u>h</u>	<u>h</u>	<u>h</u>	<u>h</u>	<u>h</u>
0	1.440	2.580	892.08	1621.97		
2	1.600	2.700	794.09	1250.27		
5	1.670	2.840	554.17	760.30		
24	1.730	2.980	148.68	304.12	0.39	0.30

The daily addition of TCS allowed reducing the growth yield to 0.39 and 0.30 mgVSS/mgCOD for HRT 11 h and 7 h, respectively. If these results are compared with the the ones shown in table 5, the reduction in sludge production was around 9% for HRT of 11 h and 36% for HRT of 7 h. This reduction in the kinetics of the sludge was quite similar to the one obtained in the preliminary studies and also in previous works.

3.3 Application of the OSA process in a lab-scale activated sludge system.

The second strategy applied for excess sludge reduction was the OSA process. The following figure shows a schema of the modified treatment system.

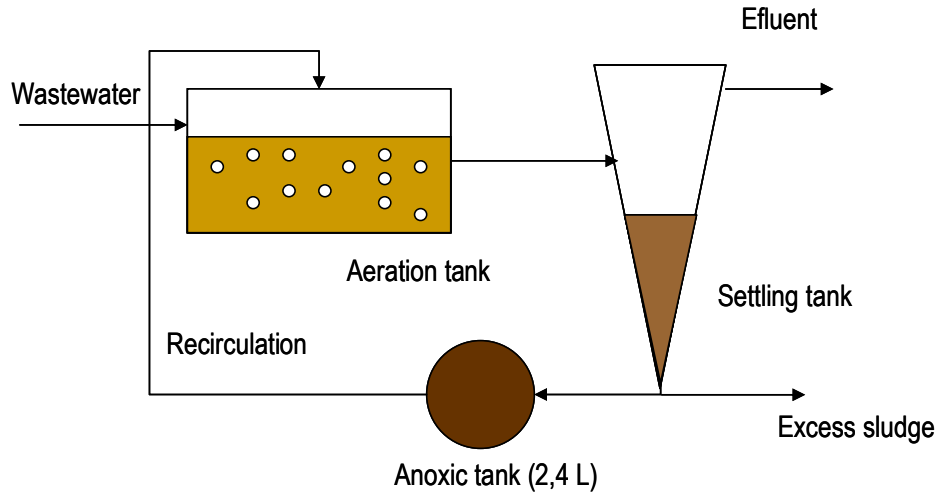


Figure 8. Schematic diagram of the OSA process applied in a lab-scale system

During this essay, different operational conditions were tested. The table below show the main characteristics of the four stages performed.

Tabla 10. Stages and operational conditions tested in the OSA system.

Stage	Time (days)	Q_{influent} (l/h)	$THR_{\text{aeration tank}}$ (h)	$Q_{\text{recirculation}}$ (l/h)	$THR_{\text{anoxic camera}}$ (h)
1	1-15	0.3	11	0.3	—
2	16-30	0.3	11	0.27	9
3	31-43	0.3	11	0.43	6
4	44-50	0.5	7	0.43	6

Stage 1 corresponds to the acclimatization period under a conventional activated sludge schema. In stages 2, 3 and 4, the anoxic tank is connected to the recirculation line.

Figure 9 illustrates the performance of the OSA system in terms of SS, SOUR and SVI.

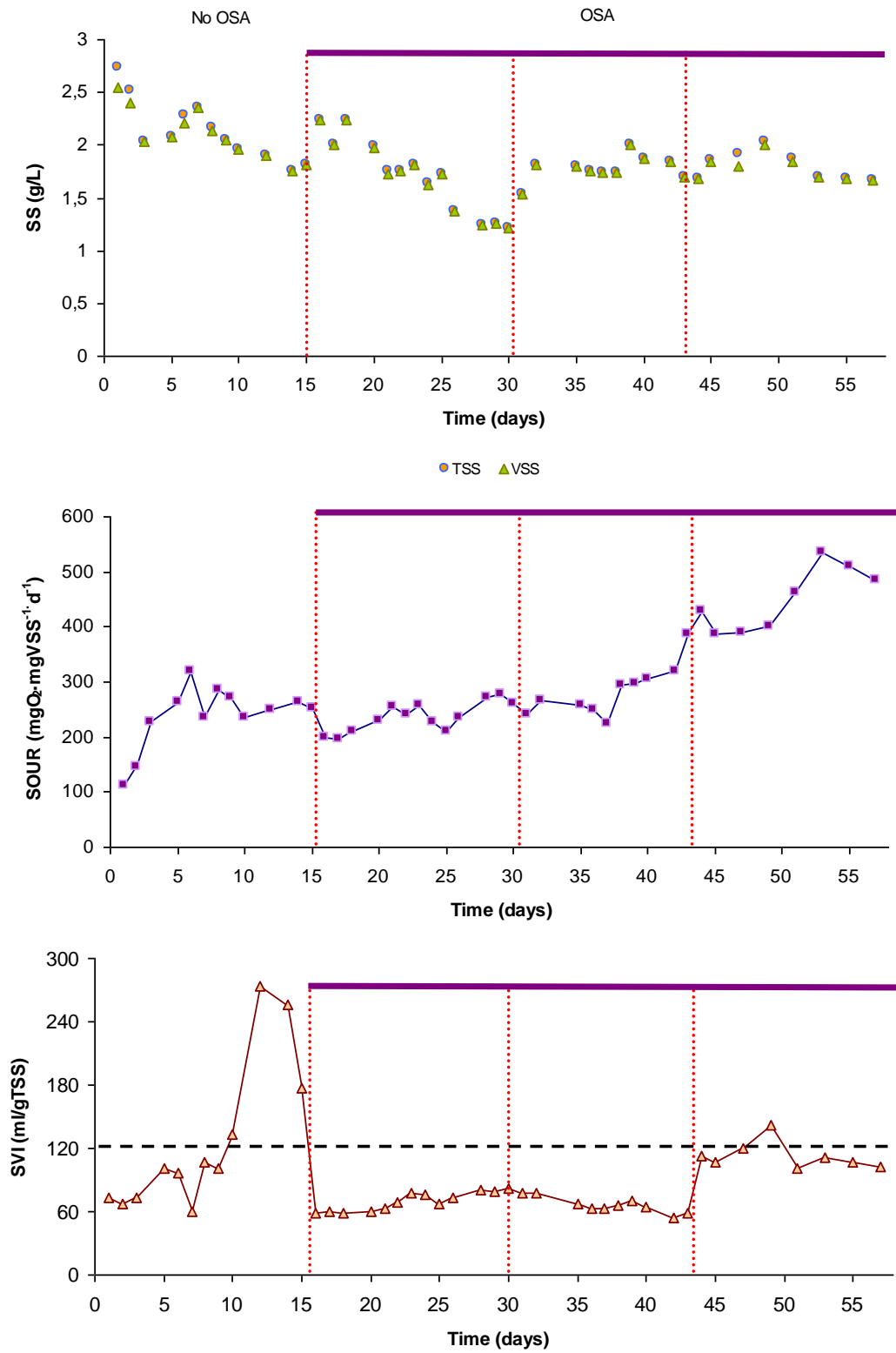


Figure 9. TSS-VSS evolution, SOUR and SVI in the system under OSA process

During the adaptation stage the TSS and VSS were established around 2 g/l. When the anoxic tank was introduced a first improvement of the suspended solids was detected due to the implementation of the anoxic camera which was inoculated with fresh sludge from an WWTP. However, during stage 2 the TSS and VSS show a declining trend. In fact, at the end of this stage the SS were established around 1.3 mg/l. In order to stop that evolution, the recirculation flow rate was increased. The HRT at the anoxic tank fell from 9 h to 6 h. During stage 3 the SS described a regular behaviour and no important variation were identified. On day 43rd of the essay, the influent flow rate was increased to 0.5 l/h with no noticeable effects on SS.

In relation to the respiratory activity of the sludge two aspects can be pointed out: the SOUR was slightly decreased when the anoxic tank was introduced in the recirculation line at stage 2. After an acclimation period to the new schema the SOUR was recovered. This fact guaranteed that anoxic and not anaerobic conditions were established in the retention tank. When increasing the organic load to the system, the SOUR described a logic increment (stages 3 and 4).

In general, the SVI showed a positive behaviour practically during all the essays, except from days 12-14 where the value was higher than 120 ml/l. According to the results, and comparing with the ones obtained in the HRT test, it can be said that the activated sludge in the OSA process presented a better settling capacity which allowed obtaining a good quality effluent.

The cumulative wasted sludge (g) for each of the stages are grafically presented in figure 10.

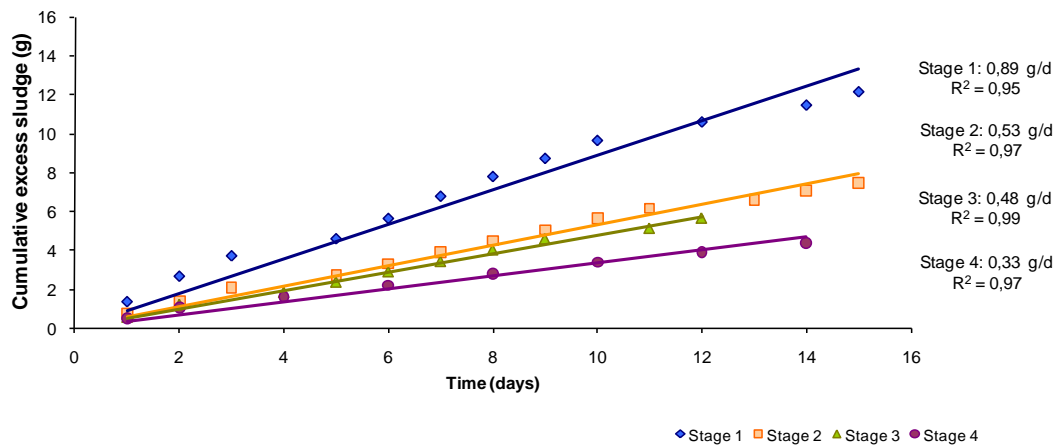


Figure 10. Cumulative wasted sludge from the activated sludge system under OSA scheme

An important reduction in excess sludge generation was observed when the OSA process was applied. The rate of waste sludge became from 0.89 g/day obtained during the acclimatization stage to 0.48-0.33 g/day when the anoxic tanks was introduced in the recirculation line which meant a reduction of more than a 50%.

Table 11 summarises other results from the monitoring of the system in this trial.

Table 11. Experimental results obtained for the OSA process

Stage	Sludge Age(days)	Cel. total/ml	Cel. active/ml	% Active	pH	COD removal (%)
1	8.0	4.0x10 ¹⁰	7.2x10 ⁹	18	7.57	80
2	10.2	2.3x10 ¹⁰	5.7x10 ⁹	27	6.94	77
3	11.0	1.7x10 ¹⁰	6.0x10 ⁹	35	6.88	85
4	11.7	2.9x10 ¹⁰	1.2x10 ¹⁰	42	6.94	88

The sludge age was obviously increased when the anoxic tank was connected to the recirculation line. pH suffered a decrease during the performance of the plant and more strongly after introducing the anoxic camera in the treatment system. However, the pH of the aeration basin was never under 6.8. The pH from the anoxic tank varied between 7.29- 7.04.

The COD removal efficiency increased during stages 3 and 4, reaching punctually a 90%. This fact was due to the activation observed both in SOUR and the active/total cells. As shown in table 11, the proportion of active cells ranged from a 18% at the beginning of the test to a 42% measured at the last stage of the trial.

The observed growth yield was determined for stages 2, 3 and 4.

Table 12. Observed growth yield obtained for activated sludge systems in the OSA process

Time (h)	TSS(g/l)			COD (mgO ₂ /l)			Y _{obs} (mgTSS/mg COD)		
	Stage 2	Stage 3	Stage 4	Stage 2	Stage 3	Stage 4	Stage 2	Stage 3	Stage 4
0	1440	1240	1440	1092.08	1086.46	892.08			
2	1570	1350	1600	794.09	797.87	794.09			
5	1670	1440	1670	554.17	594.16	554.17			
24	1730	1540	1730	175.68	135.81	148.68	0.32	0.32	0.39

In this case, the lowest growth yield was obtained both for HRT = 11 h and 9 h (0.32 mgVSS/mgCOD). For HRT = 7 h, the Y_{obs} was 0.39 mgVSS/mgCOD. Comparing this results with the ones shown in table 5, the reduction in the growth yield varied from 17% to a 25% approximately.

3.4 Solubilisation of sludge and colloidal and particulate organic matter by enzymes from an aerobic sludge digester to reduce excess sludge in a lab-scale activated sludge system.

In wastewater treatment, solubilisation can be result from extracellular bacterial enzymes produced that hydrolyse colloidal and particulate materials. Many bacterial species produce extracellular enzymes, but these enzymes are not produced all of the time. Extracellular enzymes are generally produced only when the bacteria are starved of soluble material, for example in an aerobic digester.

In this final essay two identical activated sludge systems as the one shown in figure 2 were employed, one acting like a conventional activated sludge and the other as an aerobic digester. The schematic diagram of the process is represented in figure 11.

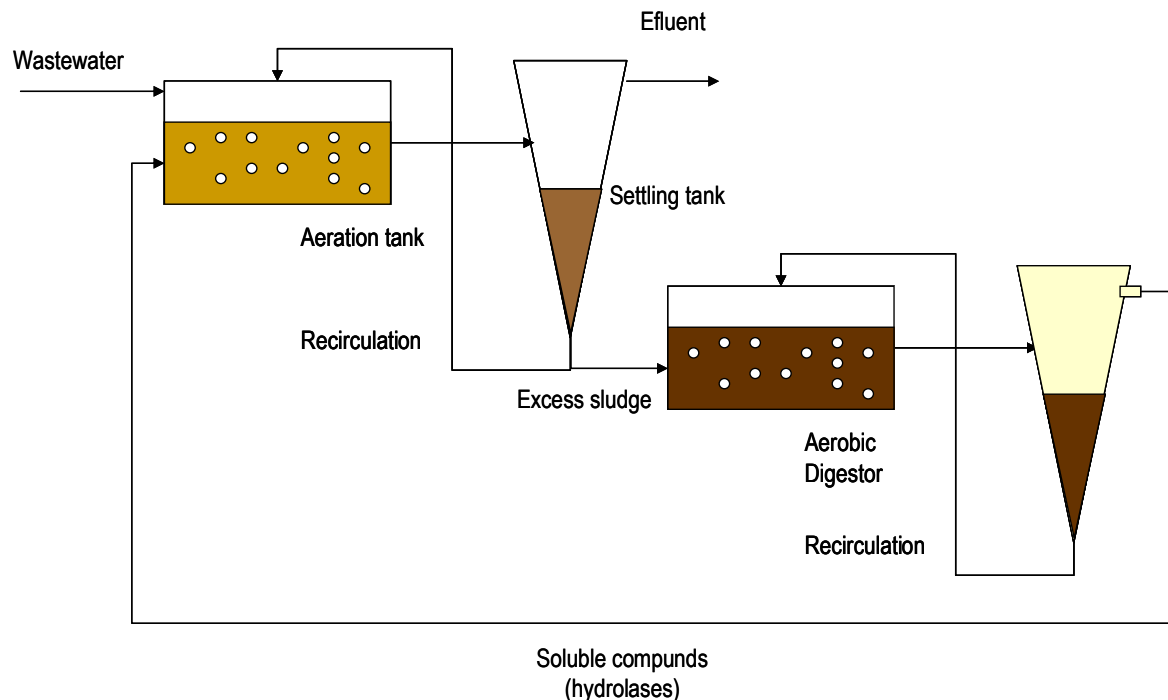


Figure 11. Schematic diagram of the lab-scale system for sludge solubilisation by enzymes generated in an aerobic digester

The waste sludge removed from the activated sludge system was introduced in the aerobic digester. However, at the beginning of the trial the aerobic digester was inoculated with concentrated sludge from the same WWTP where sludge was collected to setup the activated sludge system. An aeration pump provided the oxygen needed for the digestion of the excess sludge and also served to homogenise the content of the reactor. The secondary settler acted as a sludge thickener. The sludge accumulated in that unit was constantly recirculated to the

biological reactor by an air-lift system. No waste sludge was removed from the aerobic digester in order to assure a long sludge age and, consequently, a high level of sludge stabilization.

Daily, 250 ml of the supernatant from the sludge thickener was pumped to the activated sludge system. This liquor was composed by the soluble products from the cell lysis in the aerobic digester which composition is described in table 13. Those soluble products could facilitate the solubilization of both the sludge and the colloidal and particulate organic matter in the wastewater stream.

Table 13. Composition of the supernatant obtained at the aerobic digester

Component	Concentration
TSS (mg/L)	40,32 ± 5,35
VSS (mg/L)	8,62 ± 1,45
DQO	50,87 ± 12,41
Protease act. (μmol/min·g VSS)	2,25 ± 0,85
Esterase act. (μmol/min·g VSS)	9,7 ± 0,85
Proteins (mg/g VSS)	13,52 ± 1,96
Total carbohidrat. (mg/g VSS)	11,61 ± 2,37

The following table summarizes the different operational conditions tested in this essay. As in the rest of the trials developed in this study, the system was performance under two different HRT (11 and 7 h).

Table 14. Stages and operational conditions tested in the AS-AD connection

	Stage	Time (days)	Influent flow rate (l/h)	HRT _{acration tank} (h)	Recirculation flow rate (l/h)
Non aerobic digester associated	1	1-10	0.3	11	0.43
Aerobic digester associated	2	11-25	0.3	11	0.43
	3	26-40	0.5	7	0.66

Stage 1 was performance for the acclimatization of the sludge to the lab conditions. Since the 11th day, the supernatant obtained in the sludge thickener of the aerobic digester was pumped to the aeration tank of the activated sludge systems.

TSS-VSS, SOUR and SVI are depicted in Figure 12.

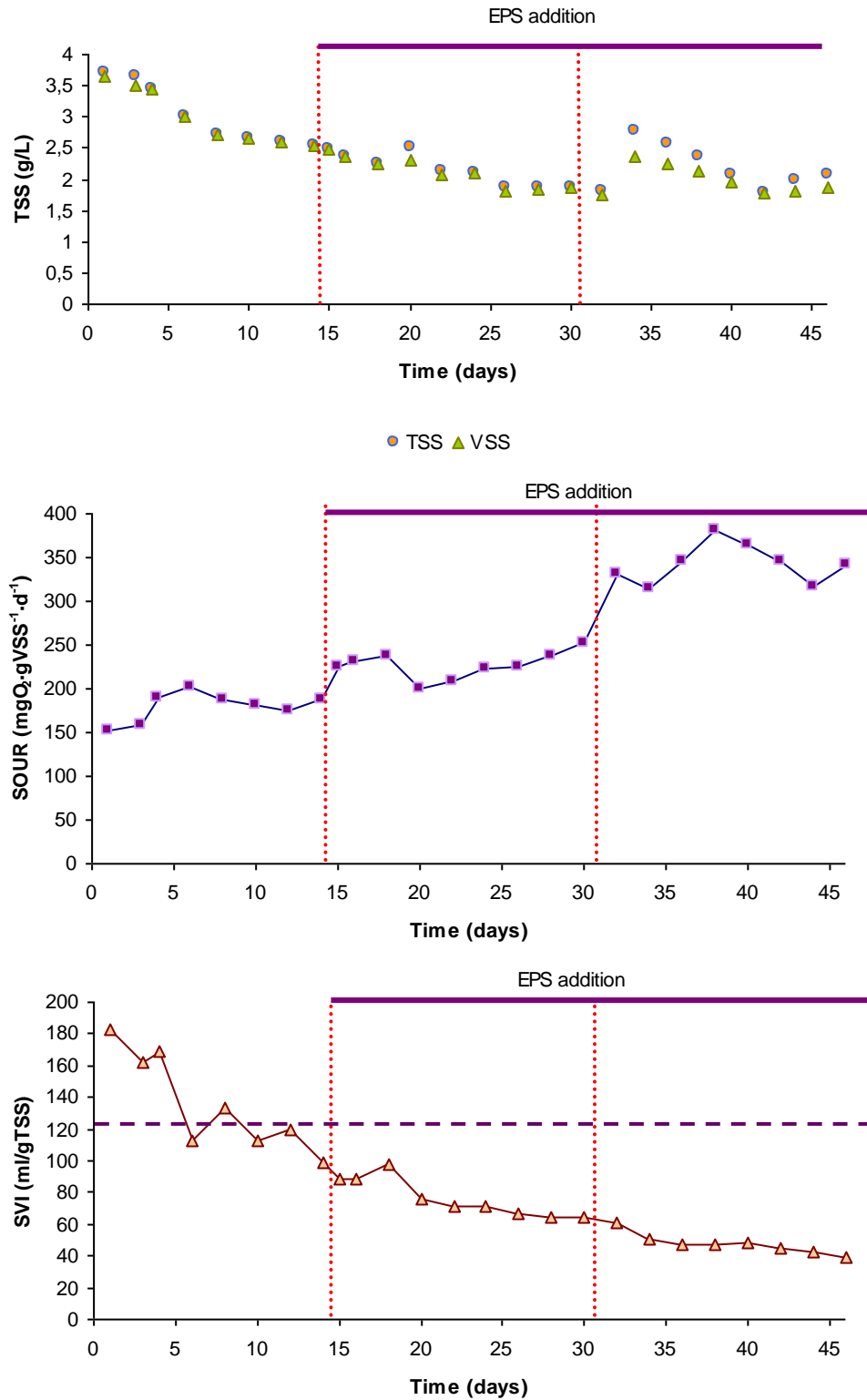


Figure 12. TSS-VSS evolution, SOUR and SVI in the system under OSA process

During the acclimatization stage the suspended solids decreased with time from 3.5 g/l to 2.5 g/l. This loss of solids had been observed in all the essays developed at a lab-scale. At stage 2, the solids were kept constant around 2.2 g/l. When increasing the influent flow rate (stage 3) a slight increase in TSS and VSS was observed.

The SVI described a downward evolution during the essay. When the activated sludge was performance alone, the SVI kept around 135 ml/gTSS. When introducing the soluble product of the digestion system, the SVI decreased to 75 ml/gTSS under HRT = 11 h. This fact indicated that the decantability of the sludge was promoted by the addition of exopolimers. Those extra exopolimers could contribute to flocs flocculation. For instance, when the influent flow rate was increased the SVI was not increased as observed in order essays performance in this study. Under HRT = 7 h the SVI was 47 ml/gTSS.

An increase on the respiratory activity was observed at stages 2 and 3. Furthermore, this positive effect of the addition of the extracelular compounds was detected on the percentage of respiring bacteria determined by CTC- staining as shown in table 15. This improvement of catabolism pathways was reflected in the COD removal efficiency. In fact, for stages 3 and 4 the efficiency of the system reached a 93- 94% the highest percentage observed in this study.

Table 15. Experimental results obtained for the AS-AD conection

Stage	Sludge Age(days)	Cel. total/ml	Cel. Active/ml	% Active	pH	COD removal (%)
1	8.2	3.7×10^{10}	6.1×10^9	16.7	7.1	86
2	6.6	4.2×10^{10}	7.3×10^9	17.7	7.0	93
3	6.7	5.1×10^{10}	1.3×10^{10}	24.6	6.9	94

The waste sludge rate at each of the operation conditions imposed to the CAS is illustrated in figure 13.

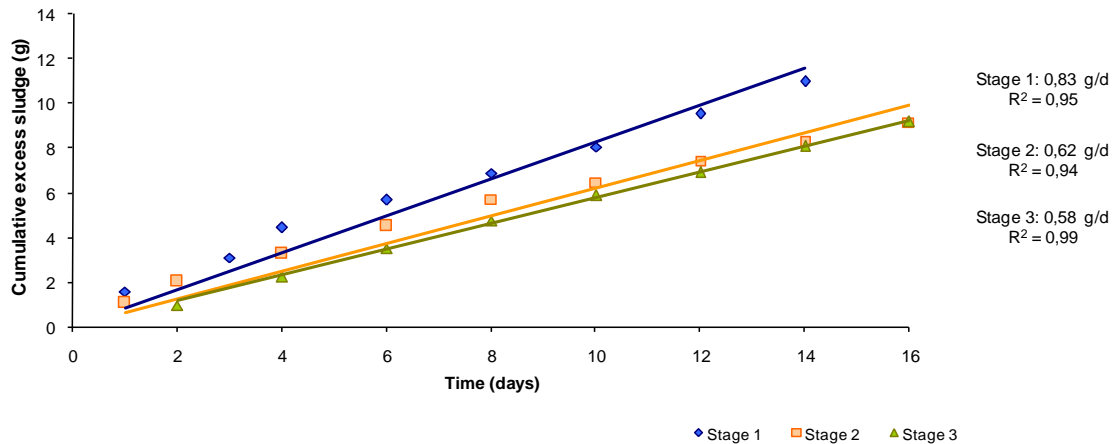


Figure 13. Cumulative wasted sludge from the activated sludge system under OSA scheme

The excess sludge production in the conventional activated sludge system during the acclimatization stage was 0.83 g/day. When the dosage of the exoenzymes and other EPS to the CAS started, the waste sludge rate decreased to 0.62 and 0.58 g/day for HRT of 11 and 7 h respectively. The wastes sludge declined in a 25% and 35%, respectively. If those rates are compared with the ones obtained in the HRT trial (figure 3) the decrease is about 27-38%. According to the results the solubilisation of the sludge by the addition of exoenzymes could reduce the amount of sludge being wasted in the activated sludge system.

At the beginning of the trial the sludge age was 8.2 days. During stages 2 and 3, and as a consequence of the reduction of the sludge content in the waste line, the sludge age was 6.6 days. pH showed a regular trend during the essay keeping practically constant around neutral conditions.

At the end of stages 2 and 3, the Y_{obs} were determined. Results are listed in table 16.

Table 16. Observed growth yield obtained for activated sludge systems in the OSA process

Time (h)	VSS(g/l)		COD (mgO ₂ /l)		Y_{obs} (mgVSS/mg COD)	
	<u>Stage 2</u>	<u>Stage 3</u>	<u>Stage 2</u>	<u>Stage 3</u>	<u>Stage 2</u>	<u>Stage 3</u>
0	1.430	2.060	842.01	1039.62		
2	1.500	2.140	597.56	792.71		
5	1.610	2.370	448.17	298.89		
24	1.750	2.540	50.93	51.98	0.40	0.49

It was observed that the Y_{obs} was not really reduced by the addition of exoenzymes and EPS if these results are compared with the ones obtained in the HRT test (figure 3). For instance, for HRT = 11 h the growth rate was decreased by only 7%. Furthermore, for HRT= 7 h the Y_{obs} was greater than the value obtained at the control test. These results indicated that under the proposed schema of treatment, the metabolic pathways were not disturbed and that the reduction in excess sludge reduction had to be promoted by the sludge and colloidal organic matter's solubilisation.

3.5. Enonomic, technical and environmental aspects of the implementation of excess sludge reduction estrategies

Reduction in excess sludge production supposes important economic savings from the treatment and management of those wastes. However, the implementation of the studied strategies also present investment costs. Therefore, an economic balance must be done before the selection and implementation of one of the strategies to a real WWTP. In addition, both technical and environmental aspects must be considered in the decision making process.

In this chapter a theoretical supposition has been raised for identifying the costs and benefits associated to the application of the three strategies studied: TCS daily dosage, OSA process and addition of exoenzymes and other EPS. A hypothetical WWTP serving a population of about 300,000 inhabitant equivalent has been considered. That WWTP have a complete water treatment and also an anaerobic digestion for the excess sludge generated. In table 17 the amount of excess sludge and the cost of its final treatment have been calculated for the conventional activated sludge system and for the implementation of the three strategies studied considering the percentage of excess sludge reduction obtained at the lab-scale system. Concretely, a 35% for TCS dosage, 60% for the OSA process and 30% for the addition of exoenzymes and other EPS form an aerobic digester. The costs have been estimated considering the prices applied in the area of Cádiz (Spain).

Different aspects from table 17 can be stressed:

- Only excess sludge from the secondary clarifier can be reduced by the implementation of the strategies so no change in the amount of primary sludge is produced.
- The percentage of primary and secondary sludge varies when applying the different strategies. This fact could produce an alteration of both the performance of the anaerobic digestion and the quality of the final product.
- The reduction on the amount of total sludge (primary + secondary) send to the digestion unit reaches a 14% for the TCS dosage, a 24% for the OSA process and a 12% for the addition of exoenzymes.

Table 17. Estimated sludge generation and operational cost associated

Treatment unit	Parameter	CAS Amount	TCS dosage Amount	OSA Process Amount	Exoenzymes and EPS Amount
Primary settling (primary sewage)	(a) Annual volume of primary sewage (m ³)	417854	417854	417854	417854
	(b) ST primary (mg/l)	15055	15055	15055	15055
	(c) ST thickened (mg/l)	68429	68429	68429	68429
	(d) Annual Volume of thickened sludge send to digestion (m ³)	91932	91932	91932	91932
	(e) Total primary sewage send to digestion (kg/y)	6290792	6290792	6290792	6290792
Secondary clarifier (biological sewage sludge)	(f) Annual volume of secondary sewage (m ³)	996051	996051	996051	996051
	(g) ST secondary (mg/l)	4212	2738	1685	2948
	(h) ST floated (mg/l)	45569	45569	45569	45569
	(i) Annual volume of floated sludge send to digestion	92066	59843	36826	64446
	(j) Total secondary sewage send to digestion (kg)	4195367	2726988	1678147	2936757
Anaerobic digesters' inlet	(k) Total sewage sludge: 1 st +2 nd (kg)	10486159	9017780	7968939	9227549
	(l) Percentage of primary sludge (in kg)	60 %	70 %	79 %	68 %
	(m) Percentage of secondary (in kg)	40 %	30 %	21 %	32 %
	(n) Annual volume of sewage sludge send to digestion (m ³)	183998	151775	128758	156378
	(o) ST to digestion (mg/l)	56991	59416	61891	59008
Anaerobic digestion	(p) Digester capacity (m ³)	22000	22000	22000	22000
	(q) ST in digesters (mg/l)	62791	53999	47718	55255
	(r) V.M. in digesters	49.61	49.61	49.61	49.61
	(s) pH	7.25	7.25	7.25	7.25
	(t) Sewage cake (kg/year)	34604324	29758675	26297498	30450911
Anaerobic digester outlet - dehydration	(u) kg sewage cake/kg sludge send to digestion	3.3	3.3	3.3	3.3
	(v) Dryness (Kg dry matter/kg sewage cake)	18.50 %	18.50 %	18.50 %	18.50 %
	(w) Dry matter sewage cake (kg/year)	6403457	5506780	4.866.296	5634877
Consumptions and costs	(x) Energy consumption (kwh/year)	1341867	1341867	1341867	1341867
	(y) kg polyelectrolite/ ton dry matter	8.5	8.5	8.5	8.5
	(z) Polyelectrolite consumption (kg/year)	54595	46950	41489	48042
	(aa) €/kg polyelectrolite	3.0	3.0	3.0	3.0
	(bb) Polyelectrolite cost (€/year)	163784	140850	124468	144126

Table 18 summarises the cost and savings associated to each of the four situations raised.

Tabla18. Estimated costs for waste sludge treatment (anaerobic digestion + dehydration)

	CAS	TCS dosage	OSA	Exoenzymes and EPS
Polyelectrolite (€/year)	163784	140850	124468	144126
Enrgy cost (€/year)	147605	147605	147605	147605
Total operational costs (€/year)	311390	288455	272073	291731
Saving (€/year)		22935	39317	19658

Until now, only cost for digestion and dehydration of the sewage sludge has been considered but the final treatment costs have not been evaluated. In table 19 the cost associated to four different sewage final treatments (dump, incineration and composting) are calculated for the four situations considered.

Final treatment	Cost (€/ton dry matter)	<u>Total cost (€/year)</u>			Exoenzymes and EPS
		CAS	TCS dosage	OSA	
Dump	7,5	48026	41301	36497	42262
Saving			(6725)	(11529)	(5764)
Thermal drying	75*	480259	413009	364972	422616
Saving			(67251)	(115287)	(57644)
Incineration	250*	1600864	1376695	1216574	1408719
Saving			(224169)	(384290)	(192145)
Composting	40**	256138	220271	194652	225395
Saving			(35867)	(61486)	(30743)

Depending on the final treatment, the savings obtained from the implementation of the excess sludge strategies are more ore less noticeable. For example, if the final treatment is the sewage deposit in a dump, the savings derived from the implementation of the strategies varied from 5800 €/year to 11500 €/year. If the final destination is a more expensive treatment (incineration), the savings can reach 385000 €/year.

In this study the investments for the implementation of the three strategies applied have been also analysed.

For instance, for the TCS dosage it has been demonstrated that the concentration needed at the aeration tank must be in the range of 0.5-0.8 mg/l considering the capacity of the reactor.

If the volume of the aeration tank is 30000 m³ (3 tanks of 10000 m³), the daily amount of TCS that must be added is 15-24 kg. The price of TCS is 4.8 €/g, so the cost for TCS dosage goes to 72000-115200 €/day, which is totally feasible.

The costs for the implementation of an anoxic tank in the recirculation line of an activated sludge have been estimated around 475000 €. In this case, the amortization period goes from only 1-2 years if the final destination of the sludge is the incineration to no more than 8 years for the composting option.

The costs associated to the exoenzymes dosage has not been calculated since this strategy is only applicable when the WWTP has an aerobic digester for sewage treatment.

Apart from economic aspects, in the selection of the strategy to be implemented in a real WWTP technical and environmental criteria must be considered:

- The addition of TCS does not require the construction of new treatment's units, just the facilities for its storage and dosage. Despite of the low concentration needed to reduce excess sludge production, the TCS can produce a negative effect on the environment as a consequence of its emission with the final effluent. In addition, the final destination of the sludge (application in agriculture, for instance) can be compromised.
- The OSA process needs the construction of a retention tank or the adaptation of an aeration basin to anoxic conditions. Consequently, the operation and maintenance of the WWTP would get complicated. However, the OSA process would not have any impacts on the environment and the final product can be valorised without any interferences.
- As the OSA process, the addition of exoenzymes and other EPS would have neither environmental impacts nor problems for the destination of the wasted sludge. The construction and exploitation of the aerobic digester needs a greater control and monitoring.

4. Conclusions

The main conclusions of this work are:

- During the start up of the activated sludge system at lab-scale conditions a typical succession of microorganisms is observed. The changes on the operational conditions of the system can be identified by the presence or the extinction of bioindicator populations. The monitoring and control of the microbial populations results of special interest to avoid non desired phenomena like bulking sludge and to guarantee an adequate effluent quality.
- The pilot plant use in these essays become unstable when increasing the influent flow rate and the HRT is fixed in 5 h. This instability has been reflected in the proliferation of filamentous bacteria and the loss of the sludge's quality. In this study it has been observed that for avoiding the bloom of filamentous bacteria the ratio "recirculation- influent flow rate" must be kept above 1.
- The excess sludge production increases when the organic load applied to the system is improved. This trend has been demonstrated at the lab-scale conditions using both real and synthetic wastewater.
- It has been demonstrated that chemical uncouplers, such as zinc or TCS, were effective in limiting sludge growth rate in this study and, consequently, were supposed to reduce excess sludge production. However, as the optimal dose was much lower for the organic protonophore, only TCS was tested in an activated sludge system in order to evaluate the performance of the system under the daily dose of this uncoupler. The addition of 0.5 mg/l of TCS reduced excess sludge generation in a 20-35% not affecting the substrate removal capability. However, the TCS dosage at a real scale results economically feasible, limiting the implementation of that strategy in those situations where others options can not be applied. In addition, the dosage of TCS requires previous works related to toxicology and ecotoxicology of this chemical (aspects that are unknown at the moment) and the quality of final product obtained and the interferences on its valorisation options.
- The insertion of an anoxic camera into the recirculation circuit to form an OSA process could result in a significant decrease in excess sludge production. This reduction can reach more than 60%. As in the TCS dosage, the combination of anoxic and oxic conditions can stimulate the metabolism's uncoupling and reduce the growth yield. In addition, the respiratory activity in the aeration basin is improved (both SOUR and active percentage increased under OSA conditions). The implementation of this strategy in a real WWTP could involve important savings and environmental benefits. The investments related to its application could be amortized in short period, no longer than 8 years.

- The addition of the exoenzymes and other EPS generated in an aerobic sludge digester to a conventional activated sludge also allows limiting waste sludge generation in the activated sludge system in a 30%. However, in this last case, this reduction is due to the solubilisation of both the sludge and the particulate and colloidal organic matter instead of metabolism dissociation. The presence of EPS in the liquor obtained from aerobic sludge digestion increases the sludge settleability, improving the performance of the system and reaching COD removal efficiencies over 90%. This strategy is limited to those WWTP that have an aerobic digestion unit.
- None of the strategies studied produces an alteration neither of the microbial community nor the performance of the activated sludge system at lab-scale conditions. Even the OSA process and the addition of exoenzymes enhance the concentration of viable-respiring bacteria in the sludge.
- The strategies considered in this study and the ones proposed by other authors only reduce excess sludge from the biological system not affecting the production of primary sludge. This fact entails that the reduction in wasted sludge's production in a WWTP would be lower than the percentages obtained at lab-scale conditions.
- The reduction of excess sludge would modify the percentage of primary and secondary sludge in the total amount of sludge send to the stabilisation unit, improving the primary one. This reality could alter both the treatment of the wasted sludge and the quality of the final product obtained.
- During the decision making process, not only economic viability must be considered but also technical and environmental aspects. The reduction of excess sludge involves significant environmental benefits, whose economic evaluation is complex.

According to the results, the strategy that could be implemented in a more successful way in a real WWTP is the OSA process. However, the implementation of the strategies will be determined by local conditions, which must include economical, technical, social and environmental aspects.

Anyway, before the implementation of the strategies for the reduction of excess sludge in a large WWTP, previous works in pilots plants but under real conditions must be developed.

References

- Awong, J., Bitton, G. and Koopman B. (1985). ATP, Oxygen Uptake Rate and INT-deshydrogenase activity of actinomycete foams. *Water Research*, Vol. 17, N° 35: 4208-4216.
- Baier U., Schmidheiny P. (1997). Enhanced anaerobic degradation of mechanically disintegrated sludge. *Water Science Technology*;36(11):137-43.
- Barjenbruch M., Hoffmann H., and Tranker J. (1999). Minimizing of foaming in digesters by pre-treatment of the surplus sludge. *Water Science Technology*;42(9):235-42.
- Barker DJ, Stuckey DC. (1999). A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. *Water Research*; 33(14):3063-82.
- Bitton G. (1994). *Wastewater Microbiology*. New York: Wiley-Liss.
- Budavari S. (1989). *The Merck Index*. Rahway. New York.
- Cabrero A., Fernandez S., Miranda F. and Garcia J. (1998). Effects of copper and zinc on the activated sludge bacteria growth kinetics. *Water Research* Vol. 32 N°5: 1355-1362.
- Camacho P., Geaugey V., Ginestet P., Paul E. (2002). Feasibility study of mechanically disintegrated sludge and recycle in the activated-sludge process. *Water Science Technology*; 46(10):97-104.
- Capdeville B, Nguyen KM. (1990). Kinetics and modeling of aerobic and anaerobic film growth. *Water Science Technology*; 22(1/2):149-70.
- Chen GH, Mo HK, Saby S, Yip WK, Lui Y. (2000). Minimization of activated sludge production by chemically stimulated energy spilling. *Water Science Technology* 42 (12):189-200.
- Chen GH, An K-J., Saby S., Brois E. and Djafer M. (2003). Possible cause of excess sludge reduction in an oxic-settling-anaerobic activated sludge process (OSA process). *Water Research* 37, 3855-3866.
- Chen GH, Mo HK, Saby S and Lui Y. (2002). Utilization of a metabolic uncoupler, 3,3',4',5-tetrachlorosalicylanilide (TCS) to reduce sludge growth in activated sludge culture. *Water Research*; 36:2077-2083.
- Chen GW., Yu HQ. and Xi PG. (2006). Influence of 2,4 -dinitrophenol on the characteristics of activated sludge in batch reactors. *Bioresource Technology* 98, 729-733.
- Chen GW., Yu HQ., Xi PG. and Xu D-Q. (2008). Modeling the yield of activated sludge in the presence of 2,4-dinitrophenol. *Biochemical Engineering Journal* 40, 150-156.

- Chiu YC., Chang CN., Lin JG., Huang SJ. (1997). Alkaline and ultrasonic pretreatment of sludge before anaerobic digestion. *Water Science Technology*;36(11):155–62.
- Chu CP., Chang BV., Liao GS., Jean DS., Lee DJ. (2001). Observation on changes in ultrasonically treated waste-activated sludge. *Water Research*;35(4): 1038–46.
- Chu CP., Feng WC., Chang BV., Chou CH., Lee DJ. (1999). Reduction of microbial density level in wastewater activated sludge via freezing and thawing. *Water Research*;33(16):3532–5.
- Chudoba P, Chudoba J, Capdeville B. (1992a). The aspect of energetic uncoupling of microbial growth in the activated sludge process: OSA system. *Water Science Technology* 26(9-11):2477–80.
- Chudoba P, Morel A, Capdeville B. (1992b). The case of both energetic uncoupling and metabolic selection of microorganisms in the OSA activated sludge system. *Environmental Technology*;13:761–70.
- Cook M, Russell B. (1994). Energy spilling reactions of *Streptococcus bovis* and resistance of its membrane to proton conductance. *Applied Environment Microbiology* 60:1942-1948.
- Dytczak M.A., Londry K.L., Siegrist H. and Oleszkiewicz J.A. (2007). Ozonation reduces sludge production and improves denitrification. *Water Research* Vol. 41: 543-550.
- Guellil A, Boualam M, Quiquampoix H, Ginestet P, Audic JM, Block JC. (2001). Hydrolysis of wastewater colloidal organic matter by extra-cellular enzymes extracted from activated sludge flocs. *Water Science Technology*;43(6):33–40.
- Horan NJ. (1999). *Biological Wastewater Treatment Systems*. Chichester, UK: Wiley.
- Kepp U., Machenbach I., Weisz N. and Solheim OE. (1999). Enhanced stabilisation of sewage sludge through thermal hydrolysis— three years of experience with a full scale plant. *Water Science Technology*; 42(9):89–96.
- Kopp J., Muller J., Dichtl N., Schwedes J. (1997). Anaerobic digestion and dewatering characteristics of mechanically disintegrated excess sludge. *Water Science Technology*;36(11):129–36.
- Lee NM, Welander T. (1996). Use of protozoa and metazoa for decreasing sludge production in aerobic wastewater treatment. *Biotechnology Letters*;18(4):429–34.
- Liang P., Huang X. and Qian Y. (2006). Excess sludge in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi*. *Biochemical Engineering Journal* 28, 117-122.
- Liu Yu. (2000). Effect of chemical uncoupler on the observed growth yield in batch culture of activated sludge. *Water Research*, Vol. 34 N°7: 2025-2030.

- Liu Yu. (2003). Chemically reduced excess sludge production in the activated sludge process. *Chemosphere* 50:1-7.
- Low E.W. and Chase H.A. (1998). The use of chemical uncouplers for reducing biomass production during biodegradation. *Water Science and Technology*. 37:399-402.
- Low E.W. and Chase H.A. (1999). Reducing production of excess biomass during wastewater treatment. *Water Research* 33, 1119-1132.
- Mayhew M and Stephenson T. (1998). Biomass yield reduction: is biochemical manipulation possible without affecting activated sludge process efficiency? *Water Science and Technology* Vol. 38 n° 8-9: 137-144.
- Mason CA., Hamer G., Bryers JD. (1986). The death and lysis of microorganism in environmental process. *FEMS Microbiology Reviews*;39:373–401.
- Metcalf & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. 3rd ed. New York, USA: McGraw-Hill.
- Neijssel O.M. (1977). The effect of 2,4-dinitrophenol on the growth of *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 in aerobic chemostat cultures. *FEMS Microbiology Lett.* 1:47-50.
- Nolasco MA., Campos ALO., Springer AM., Pires EC. (2002). Use of lysis and recycle to control excess sludge production in activated sludge treatment: bench scale study and effect of chlorinated organic compounds. *Water Science Technology*;46(10):55–61.
- Neyens E, Baeyens J, Weemaes M, De heyder B. (2003a). Pilot-scale peroxidation (H₂O₂) of sewage sludge. *Journal of Hazardous Mater*;98(1–3):91–106.
- Neyens E., Baeyens J., Weemaes M., De heyder B. (2003b). Hot acid hydrolysis as a potential treatment of thickened sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials*;98(1–3):275–93.
- Neyens E., Baeyens J., Weemaes M., De heyder B. (2003c). Alkaline thermal sludge hydrolysis. *Journal Hazardous Materials*; 97(1–3):295–314.
- Onyeche TI., Schlafer O., Bormann H., Schroder C., Sievers M. (2002). Ultrasonic cell disruption of stabilised sludge with subsequent anaerobic digestion. *Ultrasonics*; 40(1–8):31–5.
- Pamukoglu M.Y and Kargi F. (2007). Mathematical modeling of copper (II) ion inhibition on COD removal in an activated sludge unit. *Journal of Hazardous Materials* 146, 372-377.
- Ratsak CH, Kooi BW, van Verseveld HW. (1994). Biomass reduction and mineralization increase due to ciliate *Tetrahymena pyriformis* grazing on the bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Water Science Technology*;29(7):119–28.

- Saby S., Djafer M. and Chen GH. (2002). Feasibility of using chlorination step to reduce excess sludge in activated sludge process. *Water Research* Vol 36. N° 3: 656-666.
- Saby S., Sibille I., Mathieu L., Paquin J.L. and Block J.C. (1997). Influence of water chlorination on the counting of bacteria with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). *Appl Environ Microbiol* **63**, 1564–1569.
- Saiki Y., Imabayashi S., Iwabuchi C., Kitagawa Y., Okumura Y., Kawamura H. (1999). Solubilization of excess activated sludge by self-digestion. *Water Research*; 33(8):1864–70.
- Song B. and Chen X. (2008). Effect of *Aeolosoma hemprichi* on excess activated sludge reduction. *Journal of Hazardous Materials*. (*article in press*)
- Strand S.E., Harem G.N. and Stensel D. (1999). Activated sludge yield reduction using chemical uncouplers. *Water Environ. Res.* 71, 454-458.
- Tanaka S., Kobayashi T., Kamiyama K. and Bildan ML. (1997). Effects of thermochemical pre-treatment on the anaerobic digestion of waste activated sludge. *Water Science Technology*;36(8):209–15.
- Tiehm A., Nickel K., Neis U. (1997). The use of ultrasound to accelerate the anaerobic digestion of sewage sludge. *Water Science Technology*;36(11):121–8.
- Tiehm A., Nickel K., Zellhorn., Neis U. (2001). Ultrasonic waste activated sludge disintegration for improving anaerobic stabilization. *Water Research*;35(8):2003–9.
- Tokumura M., Katoh H., Katoh T., Znad H.T. and Kawase Y. (2008) Solubilization of excess sludge in activated sludge process using the solar photo-Fenton reaction. *Journal of Hazardous Materials*. (*article in press*).
- Tynecka, Z., Gos, Z. and Zajac, J. (1981). Energy-dependent efflux of cadmium coded by a plasmid resistance determinant in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 147, p. 313.
- Weemaes M., Grootaerd H., Simoens F., Huysmans A., Verstraete W. (2000). Ozonation of sewage sludge prior to anaerobic digestion. *Water Science Technology*;42(9):175–8.
- Wei Y., Wang Y., Guo X. and Liu J. (2008) Sludge reduction potential of the activated sludge process by integrating an oligochaete reactor. *Journal of Hazardous Materials*. (*article in press*).
- Wood, J.M. and Wang, H.K. (1983). Microbial resistance to heavy metals. *Environ. Sci. Technol.* **17**, pp. 582A–590A.
- Yan S., Miyanaga K., Xing X-H. and Tanji Y. (2008). Succession of bacterial community and enzymatic activities of activated sludge by heat-treatment for reduction of excess sludge. *Biochemical Engineering Journal* 39, 598-603.

Ye F.X., Shen D.S. and Li.Y. (2003). Reduction in excess sludge production by addition of chemical uncouplers in activated sludge batch cultures. *Journal of Applied Microbiology*. 95: 781-786.

Zhao QL and Kugel G. (1997). Thermophilic/mesophilic digestion of sewage sludge and organic waste. *Environ Science Health*; 31:2211-31.